Mechanismen der Anpassung an das Leben in extremen Biotopen:

Vergleichende Studien zur Atmungsphysiologie bei Lumpenus lampretaeformis und Blennius pholis.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Bernd Pelster
aus Ibbenbüren

Düsseldorf, 1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543905_0069

Mechanismen der Anpassung an das Leben in extremen Biotopen:

Vergleichende Studien zur Atmungsphysiologie bei *Lumpenus lampretaeformis* und *Blennius pholis*.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur

Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Bernd Pelster
aus Ibbenbüren

Düsseldorf, 1985

1. Berichterstatter: Professor Dr. M.K. Grieshaber
2. Berichterstatter: Professor Dr. W. Peters

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Dezember 1985

Herrn Prof. Dr. M.K. Grieshaber möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit danken. Herrn Dr. C.R. Bridges danke ich für die umfassende Einführung in die Methoden der Atmungsphysiologie. Sehr verbunden bin ich Herrn Prof. Dr. W. Peters, der mir die apparative Ausrüstung für die histologischen Untersuchungen zur Verfügung stellte. Mein Dank gilt auch Herrn Dr. R.J.A. Atkinson aus Millport sowie Herrn Dr. A.C. Taylor aus Glasgow, die mir den mehrmaligen Aufenthalt und die experimentelle Arbeit an der marinebiologischen Station in Millport (Schottland) ermöglichten.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	8
1.	Untersuchungen mit Lumpenus lampretaeformis	8
1.1.	Beschaffung und Haltung von Lumpenus	8
1.2.	Verhaltensstudien und Messungen im künstlichen Biotop	8
1.2.1.	Videoaufzeichnungen	8
1.2.2.	Messung von Po_2 und Pco_2 im Bau	9
1.2.3.	Messung der Bau-Ventilation	9
1.3.	Untersuchungen zur Atmungsphysiologie	11
1.3.1.	Sauerstoffverbrauch und CO_2-Ausscheidung im Wasser	11
1.3.2.	Bestimmung der Ventilationsfrequenz	14
1.3.3.	Erstellung von Sauerstoffbindungskurven	14
1.3.4.	CO_2-Bindungskurven von Blut- und Gewebehomogenaten	16
1.4.	Biochemische Analysen	19
1.4.1.	Chemikalien und Meßgeräte	19
1.4.2.	Extraktion zur Bestimmung von Metaboliten	19
1.4.3.	Enzymatische Bestimmung der Metabolite	20
1.4.4.	Bestimmung von Enzymaktivitäten	21
1.5.	Inkubationen unter Hypoxie	22
2.	Untersuchungen mit Blennius pholis	23
2.1.	Allgemeine Vorbemerkungen, Parallelen zu den Untersuchungen mit Lumpenus	23
2.2.	Beschaffung und Haltung von Blennius	23
2.3.	Untersuchungen zur Atmungsphysiologie	24
2.3.1.	Sauerstoffverbrauch und CO_2-Ausscheidung im Wasser und bei Luftatmung	24
2.3.2.	Erstellung von Sauerstoffbindungskurven	25
2.4.	In vivo Experimente mit Hilfe von Mikrokathetern	26
2.4.1.	Implantation von Kathetern	26
2.4.2.	Atmungsphysiologische Analysen der Blutproben	27
2.4.3.	Aufzeichnung der Herzaktivität	28
2.5.	Histologische Untersuchungen	28
2.5.1.	Lokalisation der Carboanhydrase in verschiedenen Geweben	28
2.5.2.	Histologische Untersuchung des Ösophagus	29

2.6. Versuchsansätze mit Blennius pholis 30
2.6.1. Inkubationen unter Hypoxie 30
2.6.2. Inkubationen zur Luftatmung 30
2.6.3. Versuchsansätze mit katheterisierten Tieren 31

3. Statistische Auswertung der Ergebnisse 31

III. Ergebnisse 32
1. Untersuchungen an Lumpenus lampretaeformis 32
1.1. Beobachtungen zum Grabverhalten und Messungen zur Sauerstoffversorgung im Bau von Lumpenus lampretaeformis 32
1.1.1. Grabtätigkeit des Lumpenus 32
1.1.2. Beschreibung des Baues 34
1.1.3. Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus 36
1.1.4. Ventilation des Baues 40

1.2. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Lumpenus 45
1.2.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes 45
1.2.2. Pufferkapazität des Blutes und des Muskelgewebes 49
1.2.3. Bestimmung des RQ unter Normoxie und des Sauerstoffverbrauchs in Abhängigkeit vom Po_2 53
1.2.4. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2 56

1.3. Energiestoffwechsel von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2 56
1.3.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten 57
1.3.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur 58
1.3.3. Metabolitbestimmungen im Blut 58

2. Untersuchungen an Blennius pholis 63

2.1. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Blennius pholis 63
2.1.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes 63
2.1.2. Die Bestimmung des RQ von Blennius pholis im Wasser und der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Po_2, 66
2.1.3. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2 67

2.2. Energiestoffwechsel von Blennius pholis in Abhängigkeit vom Po_2 70
2.2.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten 70
2.2.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur 71
2.2.3. Metabolitbestimmungen im Blut 71

2.3. Luftatmung von Blennius pholis 74
2.3.1. RQ bei Luftatmung 74
2.3.2. Säure-Basen-Haushalt bei Luftatmung 77
2.3.3. Ventilation und Herzaktivität 80
2.3.4. Der Energiestoffwechsel des Muskelgewebes 83
2.3.5. Histochemischer Nachweis der Carboanhydrase 84
2.3.6. Säure-Basen-Haushalt bei Hemmung der Carboanhydrase 88
2.3.7. Histologische Untersuchung des Ösophagus 90

2.6. Versuchsansätze mit Blennius pholis 30
2.6.1. Inkubationen unter Hypoxie 30
2.6.2. Inkubationen zur Luftatmung 30
2.6.3. Versuchsansätze mit katheterisierten Tieren 31

3. Statistische Auswertung der Ergebnisse 31

III. Ergebnisse 32
1. Untersuchungen an Lumpenus lampretaeformis 32
1.1. Beobachtungen zum Grabverhalten und Messungen zur Sauerstoffversorgung im Bau von Lumpenus lampretaeformis 32
1.1.1. Grabtätigkeit des Lumpenus 32
1.1.2. Beschreibung des Baues 34
1.1.3. Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus 36
1.1.4. Ventilation des Baues 40

1.2. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Lumpenus 45
1.2.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes 45
1.2.2. Pufferkapazität des Blutes und des Muskelgewebes 49
1.2.3. Bestimmung des RQ unter Normoxie und des Sauerstoffverbrauchs in Abhängigkeit vom Po_2 53
1.2.4. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2 56

1.3. Energiestoffwechsel von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2 56
1.3.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten 57
1.3.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur 58
1.3.3. Metabolitbestimmungen im Blut 58

2. Untersuchungen an Blennius pholis 63

2.1. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Blennius pholis 63
2.1.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes 63
2.1.2. Die Bestimmung des RQ von Blennius pholis im Wasser und der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Po_2, 66
2.1.3. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2 67

2.2. Energiestoffwechsel von Blennius pholis in Abhängigkeit vom Po_2 70
2.2.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten 70
2.2.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur 71
2.2.3. Metabolitbestimmungen im Blut 71

2.3. Luftatmung von Blennius pholis 74
2.3.1. RQ bei Luftatmung 74
2.3.2. Säure-Basen-Haushalt bei Luftatmung 77
2.3.3. Ventilation und Herzaktivität 80
2.3.4. Der Energiestoffwechsel des Muskelgewebes 83
2.3.5. Histochemischer Nachweis der Carboanhydrase 84
2.3.6. Säure-Basen-Haushalt bei Hemmung der Carboanhydrase 88
2.3.7. Histologische Untersuchung des Ösophagus 90

IV. Diskussion 92

1. Untersuchungen mit Lumpenus lampretaeformis in einem künstlichen Biotop 92
1.1. Der Bau von Lumpenus 92
1.2. Die Sauerstoffversorgung im Bau 94

2. Ein atmungsphysiologischer Vergleich von Blennius und Lumpenus 102
2.1. Die respiratorischen Eigenschaften des Blutes 102
2.2. Die Pufferkapazität 107
2.3. Gasaustausch unter Ruhebedingungen 109
2.4. Sauerstoffaufnahme unter Sauerstoffmangelbedingungen 114
2.5. Die Konzentration organischer Phosphate im Blut in Abhängigkeit vom Po_2 121

3. Der Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur von Blennius und Lumpenus unter Hypoxie 124

4. Luftatmung bei Blennius pholis 131
4.1. Die Problematik der Luftatmung bei Fischen 131
4.2. Der Gasaustausch bei Luftatmung 133
4.3. Die mögliche Beteiligung einer im Epithel lokalisierten Carboanhydrase 135
4.4. Die Rolle der Hautatmung 138
4.5. Der Säure-Basen-Haushalt und der Energiestoffwechsel bei Luftatmung 141

V. Zusammenfassung 146

VI. Literatur 149

Abkürzungen

ADP	Adenosin-5'-diphosphat
AMP	Adenosin-5'-monophosphat
ATP	Adenosin-5'-triphosphat
β_{NB}	Pufferkapazität des Nichtbikarbonatpuffersystems
Cco_2	Gehalt an Karbonat, Bikarbonat und CO_2
Co_2	Gehalt an Sauerstoff
CP	Creatinphosphat
DNSA	Dimethylaminonaphthalensulfonamid
EC	Energieinhalt (Energy charge)
EDTA	Ethylendinitrilotetraessigsäure
Fg	Frischgewicht
GTP	Guanosin-5'-triphosphat
Hb	Hämoglobin
H_{Fr}	Herzfrequenz
Pco_2	CO_2-Partialdruck
Po_2	Sauerstoffpartialdruck
RQ	respiratorischer Quotient
TA	Gesamtadenylatkonzentration
Tra	Triäthanolamin
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
V_{Fr}	Ventilationsfrequenz

Physikalische Einheiten

In der atmungsphysiologischen Literatur hat sich die neue physikalische Einheit Pascal noch nicht durchgesetzt, sondern es ist weiterhin die Einheit Torr gebräuchlich. Daher wird auch in der vorliegenden Arbeit die Einheit Torr verwendet.

Umrechnung:

1 Torr ≙ 133,3 Pa

I. Einleitung

Manche marine Organismen können extreme Lebensräume äußerst erfolgreich besiedeln. Eine erstaunliche Formenvielfalt der Anpassung findet sich besonders bei Arten der Gezeitenzone, wo die Spritzwasserzone und bei Niedrigwasser das Sandschlickwatt außergewöhnliche Anforderungen an das Leben stellen. Aber auch in den Felstümpeln des Felswatts können, wenn bei Niedrigwasser die Verbindungen zum offenen Meer unterbrochen werden, starke Schwankungen der physikochemischen Parameter auftreten (Truchot und Duhamel-Jouve, 1980; Morris und Taylor, 1983; Bridges et al., 1984). So kann nachts, bedingt durch die Atmungsaktivität der Pflanzen und Tiere, der Sauerstoffpartialdruck auf sehr niedrige Werte (<20 Torr) absinken. Gleichzeitig kann der CO_2-Partialdruck Werte um 3 Torr erreichen. Tagsüber werden dagegen Hyperoxien mit Po_2-Werten zwischen 400 und 600 Torr bei gleichzeitiger Hypocapnie ($Pco_2 < 10^{-4}$ Torr) registriert, was auf die Photosyntheseaktivität der Pflanzen zurückzuführen ist. Besonders schnelle und manchmal auch drastische Änderungen der physikochemischen Parameter treten am Ende einer Niedrigwasserperiode bei Überflutung des Felstümpels durch die hereinkommende Gezeit auf. Alle Faktoren entsprechen innerhalb von wenigen Minuten wieder denen des offenen Meeres.

Obwohl diese ausgeprägte Variabilität der physikochemischen Bedingungen von den Organismen der Gezeitenzonen eine hohe Anpassungsfähigkeit verlangt, sind die Felstümpel sehr dicht besiedelt. Man findet Vertreter der Grün- und Braunalgen, verschiedene Invertebraten, vor allem Vertreter der Anthozoa, Crustacea und Mollusca; die Wirbeltiere sind fast ausschließlich durch die Fische repräsentiert.

Das Sediment des Meeresbodens ist ein weiterer Biotop, der extreme Anforderungen an die dortige Fauna stellt. So konnte zum Beispiel für die Deutsche Bucht nachgewiesen werden, daß sich in den Sommermonaten, ähnlich wie in vielen Süßwasserseen, eine Sprungschicht mit starkem Sauerstoffmangel in den unteren Wasserschichten ausbilden kann (Rachor und Albrecht, 1983; Westernhagen und Dethlefsen, 1984; Dethlefsen und Westernhagen, 1984). Das Sediment selbst, besonders wenn es

schlickig ist, enthält nur in den oberen 1 bis 2 cm Sauerstoff, darunter beginnt bereits eine tiefschwarze, nach Schwefelwasserstoff riechende, reduzierende Schicht.

Viele Besiedler dieses Biotops graben sich in das Sediment ein. Sie halten mit zumindest einer Öffnung Verbindung zum freien Wasser. Damit versorgen sie ihren Bau mit frischem Wasser, das der Atmung und auch der Nahrungsaufnahme dient. Die Ventilationsleistung beeinflußt die Bedingungen in dem Bau. So kann zum Beispiel eine Verringerung des Wasserstroms eine Akkumulation von ausgeschiedenen Stoffwechselendprodukten, insbesondere von CO_2 und NH_3, und eine Verringerung des Sauerstoffvorrats zur Folge haben.

Im Sediment des Meeresbodens sind also ebenso wie in den Felstümpeln Schwankungen des Sauerstoffgehaltes zu erwarten. Änderungen der Salinität oder der Temperatur bleiben dagegen gering. Dieser Biotop ist ebenfalls vornehmlich von Anneliden, Bivalviern und Crustaceen recht dicht besiedelt. Die Wirbeltiere sind wiederum durch die Fische vertreten.

In beiden Biotopen sind Fische der Unterordnung Blennioidea zu finden. Lumpenus lampretaeformis (Walbaum, 1792) lebt vermutlich als grabende Art im Sediment des Meeresbodens. Blennius pholis Linnaeus, 1758 ist ein Bewohner der Felstümpel in der Gezeitenzone. Beiden Fischen ist diese vergleichend physiologische Studie gewidmet.

Lumpenus lampretaeformis kommt im Sublitoral der nördlichen europäischen Meere, insbesondere vor den Küsten Schottlands und Irlands vor. Bereits im 19. Jahrhundert wurde von Sim (1886) die Vermutung geäußert, daß Lumpenus eine grabende Lebensweise hat. Es ist allerdings bis heute nicht gelungen, diese Annahme durch Beobachtungen im Feld zu bestätigen. Vor wenigen Jahren konnte Nash (1980) jedoch zeigen, daß Lumpenus in einem künstlichen Biotop Bauten anzulegen vermag. Diese sind flach (bis zu ca. 10 cm tief) und haben die Form eines Y. Ihre Form kann jedoch etwas variieren, insbesondere als Folge von Einbrüchen in einem Schenkel des Baues. Der Durchmesser dieser Gänge ist kaum größer als der Durchmesser des Fisches selbst, einige Gänge können sogar enger sein und dienen nicht dem Aufenthalt, sondern eventu-

ell nur der Ventilation des Baues. Im Aquarium wurden die Bauten innerhalb weniger Stunden, vorzugsweise während der Nacht, angelegt. Es konnten jedoch keine Angaben darüber gemacht werden, wie sie gegraben wurden (Nash, 1980).

Über die Bedeutung der Bauten für den Fisch gibt es nur vage Vorstellungen. Sicherlich kommt ihm eine gewisse Schutzfunktion zu, auch wenn freischwimmende Fische nach Beobachtungen von Nash (1980) bei Störungen zumindest im Aquarium nicht in den Bau gehen. Diese Beobachtung konnte auch bei Video-Aufzeichnungen im natürlichen Biotop bestätigt werden. Am Meeresboden sind zwar verschiedene Öffnungen zu erkennen, eine sichere Zuordnung eines Baues zur Art Lumpenus ist jedoch bisher nicht möglich (Atkinson und Nash, 1985).

Der Bau könnte auch einem Brutpflegeverhalten dienen (Gordon und Duncan, 1979). Diese Annahme stützt sich vor allem darauf, daß die Autoren weder Eier noch Larven im freien Wasser finden konnten.

Die Nahrung von Lumpenus besteht im wesentlichen aus Polychaeten, Nematoden, Ostracoden und Copepoden (Gordon und Duncan, 1979).

Blennius pholis lebt in den Felstümpeln der Gezeitenzone entlang den europäischen Atlantikküsten. Dort findet man ihn zwischen Felsspalten und unter Steinen verborgen. Blennius hat ein weites Nahrungsspektrum, wobei er sessile Tiere und Algen bevorzugt (Quasim, 1957; Dunne, 1977; Milton, 1983). Am häufigsten findet man Balanoiden in seinem Darm, und es gibt möglicherweise Parallelen zwischen dem Vorkommen von Seepocken und von Blennius pholis (Quasim, 1957).

Die Eier dieser Fische werden in Felsspalten an die Steine geheftet. Das Männchen bewacht sie und sorgt für eine Ventilation des Wassers in den Höhlungen, die man als Nest bezeichnen könnte. (Quasim, 1956).

Die Biologie und insbesondere die Physiologie von Fischen der Gezeitenzone, die von Gibson (1982) in einem Übersichtsartikel zusammengefaßt wurde, ist weitaus besser untersucht als die der grabenden Fische. Deshalb liegen

über Blennius pholis im Gegensatz zu Lumpenus bereits einige Arbeiten über physiologische Anpassungen an die speziellen Gegebenheiten eines Felstümpels vor. So konnten Wallace (1973) sowie Campbell und Spencer Davies (1975) eine gute Adaptation an Temperaturschwankungen mit einem hohen Grad an Eurythermie nachweisen. Wechselnde Salinitäten werden von Blennius ebenfalls durch ein hohes Maß an osmoregulatorischer Kapazität bewältigt (Milton, 1971; Davenport und Vahl, 1979).

Neben der Temperatur und der Salinität kann, wie bereits ausgeführt, auch das Sauerstoffangebot in den Felstümpeln stark variieren. Bereits im vorigen Jahrhundert wurde beobachtet, daß Blennius das Wasser verlassen und Luft atmen kann (Couch, 1863; Day, 1880-4; Kent, 1883, zitiert nach Davenport und Woolmington, 1981). Davenport und Woolmington (1981) vermuten, daß diese Fähigkeit genutzt wird, um einer nächtlichen Hypoxie auszuweichen.

In mehreren Studien konnte gezeigt werden, daß Blennius im Wasser oder an der Luft gleich viel Sauerstoff verbraucht (Campbell, 1972, zitiert nach Campbell und Spencer Davies, 1975; Daniel, 1971; Wallace, 1973). Laming et al. (1982) hingegen registrierten einen verringerten Sauerstoffverbrauch in den ersten Stunden der Luftatmung. Auch bezüglich der Herzaktivität differieren die Ergebnisse dieser Autoren von denen Daniels (1971). Während Daniel eine unveränderte Herzschlagfrequenz beim Übergang zur Luftatmung gemessen hat, berichten jene von einer Bradykardie, die etwa 30 Minuten andauert. Aufgrund dieser widersprüchlichen Ergebnisse ist eine endgültige Aussage im Hinblick auf den Sauerstoffverbrauch bzw. auf die Herzaktivität beim Übergang zur Luftatmung nicht möglich, so daß weitere Studien notwendig sind, um die tatsächlichen Vorgänge aufzuklären.

Die Haut scheint eine wichtige Rolle bei der Sauerstoffaufnahme zu spielen. Nonnotte und Kirsch (1978) konnten zeigen, daß im Wasser eine Nettosauerstoffaufnahme durch die Haut erfolgt. Das bedeutet, daß die Sauerstoffaufnahme durch die Haut größer ist als der Sauerstoffverbrauch der Haut selbst. Dieser Befund ist überraschend, da bei den meisten Fischen

die Haut nicht zur Sauerstoffversorgung anderer Organe beitragen kann (Kirsch und Nonnotte, 1977; Nonnotte und Kirsch, 1978).

Laming et al. (1982) diskutieren zudem eine Beteiligung des gefäßreichen Ösophagus an der Sauerstoffaufnahme. Allerdings fand die CO_2- Ausscheidung bei diesen Studien keine Berücksichtigung. Die CO_2- Ausscheidung der Fische erfolgt unter maßgeblicher Beteiligung der Carboanhydrase der Erythrozyten und entspricht damit der CO_2-Ausscheidung der Säugetiere (Randall und Daxboeck, 1984). An der Luft verlieren die Kiemen häufig ihre Funktionsfähigkeit, und viele luftatmende Fische zeigen eine stark verringerte CO_2-Ausscheidung an der Luft (Übersichtsarbeiten: Johansen, 1970; Randall et al., 1981a). Es besteht jedoch die Möglichkeit, daß, ähnlich wie bei den Labyrinthfischen, eine in Epithelzellen lokalisierte Carboanhydrase die CO_2-Ausscheidung bei Luftatmung stark fördert (Burggren und Haswell, 1979).

Atmungsphysiologische Studien von Bridges et al. (1984) haben Hinweise darauf gegeben, daß Blennius bei Hypoxie das Wasser nicht verlassen muß. Vermutlich kann der Fisch aufgrund seines flexiblen Sauerstofftransportsystems auch bei reduziertem Sauerstoffangebot die Versorgung des Gewebes in etwa aufrechterhalten. Die Pufferkapazität des Blutes ist gering, und geringe Erhöhungen der Protonenkonzentration verursachen bereits deutliche pH-Wert-Verschiebungen. Diese wiederum bewirken aufgrund des hohen Bohr-Effektes eine starke Verminderung der Sauerstoffaffinität, wodurch das Hämoglobin in den Kapillaren der Gewebe leichter den Sauerstoff abgibt. Die Untersuchungen ergaben außerdem, daß die organischen Phosphate ATP und GTP einen starken Einfluß auf die Sauerstoffbindungseigenschaften des Hämoglobins haben. Die Regulation der Affinität des Fischhämoglobins zum Sauerstoff durch organische Phosphate in Abhängigkeit von Umweltfaktoren konnte bereits mehrfach gezeigt werden (Übersichtsarbeiten: Johansen und Weber, 1976; Powers, 1980; Wood, 1980; Weber, 1982).

Für die vorliegende vergleichende physiologische Arbeit ergaben sich aus den vorhandenen Informationen folgende

Fragestellungen und Aufgaben:

a) Für die Arbeit mit Lumpenus lampretaeformis

1.) In einem geeigneten künstlichen Biotop sollten intensive Studien zum Grabverhalten von Lumpenus durchgeführt werden. Von besonderem Interesse war hier, wie die Fische den Bau graben, und wie in dem Bau die Sauerstoffversorgung erfolgt. Während bei den Verhaltensstudien mit einer Videokamera gearbeitet werden sollte, sollte letzteres unter Einsatz von Strömungsmeßgeräten sowie durch Messung von Po_2 und Pco_2 im Bau untersucht werden.

2.) Die Voraussetzung für die Analyse der respiratorischen Anpassungen an eine grabende Lebensweise ist zunächst einmal eine Charakterisierung des Sauerstofftransportsystems von Lumpenus sowie eine Untersuchung der Puffereigenschaften des Blutes und des Muskelgewebes. Weiterhin sollte unter Ruhebedingungen der respiratorische Quotient bestimmt werden. Ausgehend von diesen Messungen konnte dann der Einfluß fortschreitender Hypoxie auf den Sauerstoffverbrauch sowie auf die Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) analysiert werden.

3.) Adaptationen an hypoxe Bedingungen waren auch im Bereich des Energiestoffwechsels zu erwarten. Für die Analyse des Energiestoffwechsels im Muskelgewebe bot sich eine Bestimmung der Aktivitäten wichtiger Enzyme des Energiestoffwechsels sowie eine Bestimmung von Metaboliten des Stoffwechsels nach Inkubation bei verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken an.

b) Für die Arbeit mit Blennius pholis

1.) Bei der Analyse des Sauerstofftransportsystems von Blennius konnte im wesentlichen auf die ausführlichen Studien von Bridges et al. (1984) und Bridges (in Vorbereitung) zurückgegriffen werden. Die maßgeblichen Parameter des Sauerstofftransportsystems sollten jedoch unter Anwendung der genaueren Diffusionstechnik erneut bestimmt werden. Auch für Blennius war unter Ruhebedingungen der respiratorische Quotient zu bestimmen und der Einfluß von Hypoxie auf den Sauerstoffverbrauch und die Ventilationsfrequenz zu analy-

sieren.

2.) Der Energiestoffwechsel in der Muskulatur sollte durch Bestimmung der Aktivität wichtiger Enzyme des Energiestoffwechsels sowie durch Bestimmung von Metaboliten des Stoffwechsels nach Inkubation bei verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken untersucht werden.

3.) Ein besonderer Aspekt bei den Untersuchungen mit Blennius pholis ist die Fähigkeit zur Luftatmung. Bisherige Studien hierzu haben widersprüchliche Ergebnisse hervorgebracht,und daher sollten der Sauerstoffverbrauch und die Herzaktivität noch einmal eingehend analysiert werden. In bezug auf den Gasaustausch war besonders die CO_2- Ausscheidung zu berücksichtigen, die in bisherigen Studien keine Beachtung gefunden hat. Bei der CO_2- Ausscheidung an der Luft ist eventuell eine in Epithelzellen lokalisierte Carboanhydrase beteiligt (Burggren und Haswell, 1979). Daher sollten die Gewebe, die für den Gasaustausch während der Luftatmung in Frage kommen, histochemisch und histologisch analysiert werden. Im Zusammenhang mit der CO_2- Ausscheidung standen in vivo Untersuchungen zum Säure-Basen-Haushalt beim Übergang zur Luftatmung, da eine Akkumulation von CO_2 eine große Belastung für den Säure-Basen-Haushalt darstellt. Mit Hilfe von chronisch implantierten Kathetern konnten Blutproben gewonnen werden. Atmungsphysiologische und biochemische Analysen dieser Proben sollten Aufschluß über die Veränderungen geben, die in dem Tier beim Übergang zur Luftatmung erfolgen.

II. Material und Methoden

1. Untersuchungen mit Lumpenus lampretaeformis

1.1. Beschaffung und Haltung von Lumpenus

Lumpenus lampretaeformis (Stichaeidae, Blennioidea, Perciformes) wurde mit einem Grundnetz aus ca. 60 - 70 m Tiefe vor der schottischen Westküste im Firth of Clyde gefangen. Die Tiere wurden zur marinebiologischen Station Millport gebracht und dort in Aquarienbecken mit fließendem Seewasser (Temp. 14 $\pm$ 1°C) gehalten. Das Gewicht der für die Versuche eingesetzten Tiere betrug 4.7 - 14,3 g. Da die empfindlichen Tiere den langen Transportweg von Millport nach Düsseldorf nicht überstanden, wurden alle Versuche mit diesen Tieren während mehrerer Aufenthalte jeweils im September der Jahre 1982 - 1984 an der biologischen Station Millport durchgeführt.

1.2. Verhaltensstudien und Messungen im künstlichen Biotop

1.2.1. Videoaufzeichnungen

Als künstlicher Biotop diente ein runder, ca. 1 m hoher Tank von etwa 1,3 m Durchmesser. Der Boden dieses Beckens war mit 30 cm Schlick bedeckt, der dem Sediment im natürlichen Biotop entsprach. Die Wasserversorgung erfolgte mit fließendem Seewasser von 14 $\pm$ 1°C, welches zusätzlich belüftet wurde. In diesen Tank wurden bis zu 12 Fische gleichzeitig eingebracht, um Verhaltensstudien durchzuführen. Die Beleuchtung erfolgte in einem 12 : 12h Rhythmus. In der Tag-Phase wurde ein grünes Licht gegeben, welches in etwa dem natürlichen Licht entsprach. Zur Beobachtung in der Dunkelperiode diente schwaches Rotlicht. Am Ende dieser Versuche wurden die angelegten Bauten mit Kunstharz ausgegossen (Nash et al, 1984; Atkinson und Chapman, 1984). Das Mischungsverhältnis von Monomeren und Katalysator betrug 98% zu 2% (AP 101 PA mit Flüssigkatalysator, Trylon Ltd, Wollaston Northants, Großbritannien). Nach einer Aushärtezeit von mindestens 5 Stunden konnten die Harzausgüsse ausgegraben, vermessen und fotografiert werden.

Die Beobachtung der Fische erfolgte mit Hilfe einer hochempfindlichen Videokamera (WV 1350, National, Matsushita, Tokio, Japan) und einem Videorecorder mit Zeitlupeneinstellung (NV 8030 B, Time-Lapse Recorder, National). Von einigen Bewegungssequenzen wurden Bildfolgen vom Monitor (Standbildeinstellung) abgelichtet.

1.2.2. Messung von Po_2 und Pco_2 im Bau

Für die Aufzeichnung von Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus wurde ein Katheterschlauch (PE 60, ϕ = 0,65 mm Clay Adams, Parsippany, USA) einige Zentimeter weit in die Öffnung des Baues eingebracht. Die Spitze des Schlauches bildete eine umgedrehte Kanüle, die mit einer feinen Gaze bedeckt war, um ein Eindringen von Sediment zu verhindern. Damit an zwei Öffnungen eines Baues gemessen werden konnte, wurde mit zwei Kathetern gearbeitet. Diese waren über einen Dreiwegehahn miteinander verbunden. Somit konnte abwechselnd aus der einen und aus der anderen Öffnung Wasser entnommen werden. Mit einer peristaltischen Pumpe (Pharmacia, Freiburg) wurde Wasser aus dem Bau durch diesen Katheter in eine Elektrodenkammer gesogen (10-15 $ml \cdot h^{-1}$). Diese Kammer, die mit Wasser aus dem Tank auf 14 $\pm$ 1°C temperiert wurde, enthielt eine O_2-Elektrode (E 5046, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) sowie eine CO_2-Elektrode (E 5036, Radiometer). Die Elektroden waren jeweils mit einem Monitor verbunden (Strathkelvin Instruments, Glasgow, Großbritannien, bzw. PHM 71 mit CO_2-Modul, Radiometer, Kopenhagen, Dänemark) und dieser wiederum mit einem Linseis Zweikanalschreiber. Die Kalibrierung der Elektroden erfolgte über Gasgemische (0,1 - 0,6% CO_2 sowie 0 - 80% Luftsauerstoff), die mit Hilfe von 2 Gasmischpumpen (303/a-F, Wösthoff, Bochum) hergestellt wurden. Die Messungen in den verschiedenen Öffnungen der Bauten erstreckten sich jeweils über mehrere Stunden.

1.2.3. Messung der Bau-Ventilation

Die Ventilation des Baues wurde zunächst rein qualitativ mit einem Thermistorsystem, bestehend aus zwei Thermistoren und einer Spannungsquelle, bestimmt (Brand und Taylor, 1974;

Bridges, 1979). Die Thermistoren (ITT Thermistor, Typ F23D, Widerstand 2kOhm) waren über eine Spannungs- und Regeleinheit (5kOhm Potentiometer, mit einem Flachschreiber (Tekman) verbunden. Für den Abgleich einer Basislinie wurden beide Thermistoren in weitgehend strömungsfreies Wasser gebracht, so daß keine Temperaturschwankungen auftreten konnten. Anschließend wurde ein Thermistor direkt über die Öffnung eines Baues gebracht und mittels eines Trichters von äußeren Strömungen abgeschirmt (Bridges, 1979). Der andere Thermistor blieb als Referenzthermistor in strömungsfreiem Wasser. Nun registrierte Temperaturschwankungen waren auf Strömungen zurückzuführen, die entweder aus dem Bau kamen oder in ihn hineingingen. Eine Strömungsrichtung konnte mit diesem Aufbau nicht bestimmt werden.

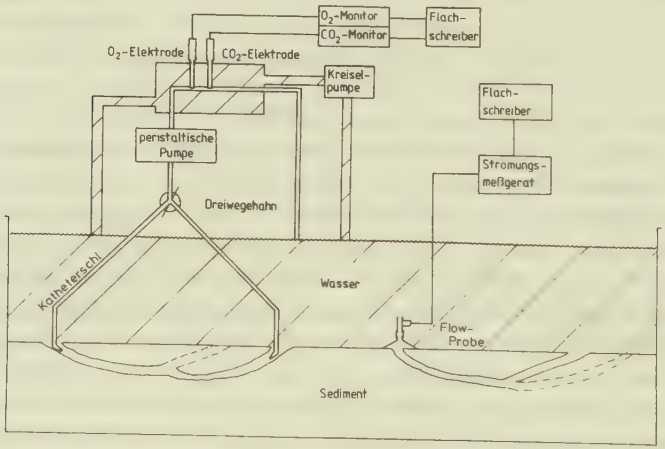

Abb. 1
Experimenteller Aufbau zur Messung des Po_2 und Pco_2 sowie zur Untersuchung der Wasserströmung im Bau von Lumpenus

Aufbauend auf diese Experimente wurde dann ein magnetisches Strömungsmeßgerät (SP 2202, Gould Medical, Düsseldorf) mit einem 3 mm Flow Transducer (No. SP 7517-030-605-018) eingesetzt (Kerstens et al., 1979). Der Monitor war mit einem Flachschreiber (Tekman) verbunden. Der Flow Transducer wurde an einen flachen Glastrichter angeschlossen, der auf die

Öffnung eines Baues gestellt wurde (Abb. 1). Die Kalibrierung des Strömungsmeßgerätes erfolgte entweder über eine peristaltische Pumpe (Pharmacia, Freiburg) oder über direkte Quantifizierung einer Wassermenge pro Zeiteinheit (9 - 55 $ml \cdot min^{-1}$). Diese Art der Eichung war erforderlich, da die handelsübliche Kalibrationshilfe auf die Viskosität des menschlichen Blutes eingestellt ist und daher nicht verwendet werden kann. Die Integration der Fläche unter dem Peak der Schreiberaufzeichnung erfolgte mit einem digitizing tablet (Summagraphics, Fairfield, Amerika), angeschlossen an einen Commodore pet Mikrocomputer. Die Fläche eines Peaks wurde jeweils mindestens dreimal ausgemessen, und die Werte wurden gemittelt.

1.3. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie

1.3.1. Sauerstoffverbrauch und CO_2-Ausscheidung im Wasser

Das Respirometer zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs bzw. der CO_2-Ausscheidung arbeitete nach dem Prinzip des "intermittent-flow system" (vgl. Forstner, 1983).

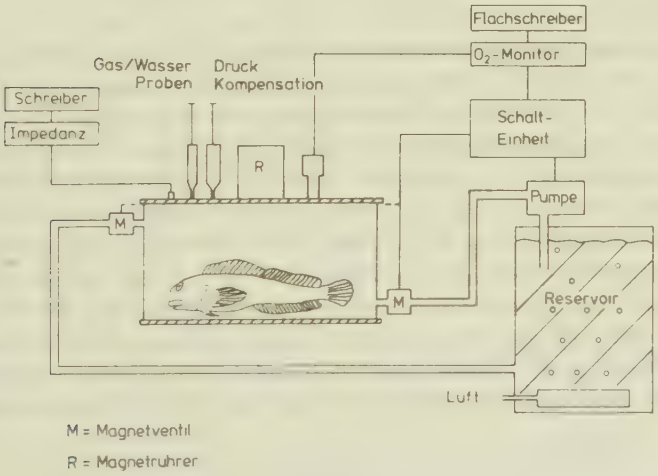

Abb. 2
Schematische Darstellung des Respirometers

Dieses System ist dadurch charakterisiert, daß das Respirometer mit Hilfe einer Pumpe (Eheim, No. 1021, Fa. Rebie, Bielefeld) aus einem Vorratsbecken, in dem das Wasser ständig mit Luft äquilibriert wird, bei offenem Wasserkreislauf mit oxygeniertem Wasser versorgt wird. Periodisch wird dieser Kreislauf jedoch unterbrochen, und der Sauerstoffverbrauch kann bei geschlossenem Respirometer gemessen werden. Um diese Messungen zu automatisieren, wurde eine Schaltvorrichtung konstruiert, die den Kreislauf in Abhängigkeit vom Po_2 an- oder abschaltete, wobei die Schaltdifferenz auf 20 Torr festgesetzt wurde. Um z.B. den Gasaustausch bei Normoxie zu bestimmen, wurden die Schaltschwellen in der Regel bei 120 und 140 Torr Po_2 eingestellt. Bei geschlossenem Respirometer fiel der Po_2 aufgrund des O_2-Verbrauchs des Tieres. Sobald der Po_2 auf 120 Torr gesunken war, schaltete das Steuergerät die Kreiselpumpe ein und öffnete die Magnetventile (Sirai, Fa. Metzenauer u. Jung, Wuppertal) am Eingang und am Ausgang des Respirometers. Dadurch wurde das Tierraumgefäß mit oxygeniertem Wasser versorgt. Sobald der Po_2 den oberen Schwellenwert erreichte, schaltete das Steuergerät die Pumpe wieder ab, und die Magnetventile wurden geschlossen.

Das Volumen des Vorratsbeckens betrug ca. 15-20 Liter (T = 15°C). Das Wasser wurde mit einer Membranpumpe (Wisa, Fa. Rebie, Bielefeld) ständig mit Luft begast und bei jedem Wechsel des Versuchstieres erneuert. Da die in dem natürlichen Seewasser in Millport enthaltenen Mikroorganismen eine hohe Atmungsaktivität zeigten, mußte das Wasser zunächst gefiltert werden (0,2 µm Filter). Das Volumen des Respirometers betrug entweder 700 ml oder 1023 ml, je nach Größe des Fisches. Mit einem Magnetrührer auf dem Deckel des Respirometers wurde das Wasser ständig gemischt, so daß keine Gasgradienten entstehen konnten. In den Deckel des Respirometers wurde eine O_2-Elektrode (Radiometer, E 5046) eingesetzt, um den Po_2 zu messen. Sie war verbunden mit einem Sauerstoffmonitor (PHM 71, Radiometer), und dieser war wiederum an einen Flachschreiber (Linseis) angeschlossen. Die Kalibration erfolgte mit luftgesättigtem Seewasser sowie mit

Nullösung, bestehend aus 0,01 M $Na_2B_4O_7$, versetzt mit einigen Kristallen Na_2SO_3. Weiterhin waren zwei Kanülen in den Deckel eingelassen, um mit Hilfe von Spritzen Wasserproben entnehmen zu können. Durch einen weiteren Ausgang wurden die Elektroden für die Impedanzmessung gelegt (siehe II.1.3.2.).

Die Auswertung der Schreiberaufzeichnungen über den Sauerstoffverbrauch erfolgte in Anlehnung an Forstner (1983) gemäß folgender Gleichung:

$$Mo_2(\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}) = \frac{h}{100\%} \cdot (\alpha O_2 \cdot Po_2) \cdot \frac{cs}{l} \cdot V \cdot \frac{1000}{g}$$

h = vertikales Δ der Schreiberaufzeichnung (mm)
100% = vertiaklles Δ bei 100% Sauerstoffsättigung (mm)
αO_2 = Löslichkeitskoeffizient für Sauerstoff ($mmol \cdot l^{-1} \cdot Torr$)
Po_2 = Sauerstoffpartialdruck bei 100% Sättigung (Torr)
cs = Schreiberpapiervortrieb ($mm \cdot h^{-1}$)
l = Länge der Meßstrecke (mm)
V = Respirometer Volumen (l)
g = Gewicht des Tieres (g)

Für die Bestimmung des respiratorischen Quotienten wurde zur Zeit t = 0 mit Hilfe der Probenspritzen eine Wasserprobe (etwa 0,4 ml) zur Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes aus dem Respirometer entnommen. Anschließend wurde das Respirometer verschlossen. Zu definierten Zeiten (t_1, t_2 usw.) wurden ebenso weitere Proben entnommen. In dem Respirometer waren zwei Spritzen eingebaut. Daher konnte das entnommene Wasservolumen unmittelbar ersetzt und damit ein Unterdruck im Gefäß vermieden werden. Das durch diese Probennahme geringfügig veränderte totale Wasservolumen des Systems sowie der vermutlich etwas höhere Sauerstoffgehalt des Wassers der Kompensationsspritze (lange Diffusionsstrecke durch die Kanüle) können unberücksichtigt bleiben, da der mögliche Fehler unter 1% liegt und somit nicht signifikant ist.

Die Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes der Wasserproben erfolgte gemäß der Methode nach Cameron (1971) bei einer Temperatur von 25°C. Die Methode basiert darauf, daß bei

starkem Ansäuern einer bikarbonathaltigen Lösung das Bikarbonat vollständig in CO_2 überführt wird. Die entsprechende Pco_2 - Änderung kann dann mit einer Elektrode registriert werden. Das Volumen der Meßkammer betrug 232 µl, das Probenvolumen 50 µl. Als Säure zur Freisetzung des Bikarbonates in Form von CO_2 wurde 0.1 M HCl vorgegeben. Die Kalibrierung erfolgte mit 50 µl eines 1 bzw. 2 mM $NaHCO_3$ Standards. Jede Respirometerprobe wurde drei- bis viermal gemessen. Die Bestimmung des Pco_2 erfolgte mit einer Elektrode (Radiometer E 5036) und einem Blutgasanalysator PHM 73 (Radiometer).

1.3.2. Bestimmung der Ventilationsfrequenz

Die Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) wurde mit Hilfe der Impedanztechnik (Hoggarth und Trueman, 1967) bestimmt. Kupferdrahtelektroden wurden den Fischen nach leichter Betäubung mit 0,1 $g \cdot l^{-1}$ MS 222 (Tricaine Methansulfonsäure, Sigma, St. Louis, USA) auf die Operkula geklebt (Histoacryl, Braun Melsungen AG, Spangenberg). Um eine bessere Haftung zu erzielen, wurden sie vorsichtig durch eine Kanüle unter die Haut geschoben und die Elektrodendrähte zusätzlich an der Rückenflosse befestigt. Die Elektroden wurden an eine Impedanzeinheit (Strathkelvin Instrumentation, Glasgow, Großbritannien) im Washington-Schnellschreiber (BioScience, Sheerness, Großbritannien) angeschlossen.

1.3.3. Erstellung von Sauerstoffbindungskurven

Für die Erstellung von Sauerstoffbindungskurven von Lumpenus wurde das Blut von jeweils 4-6 Tieren vereinigt. Die Tiere wurden mit 0,1 $g \cdot l^{-1}$ MS 222, (Sigma, St. Louis, USA) betäubt; anschließend wurde das Blut durch Punktion aus der Caudalvene entnommen. Alle Spritzen und Glasgefäße wurden mit 100 IU Heparin in Fischringerlösung (160 mM NaCl, 5 mM KCl, 1,5 mM $CaCl_2$, 1 mM $MgSO_4$, 5 mM Glucose und 5 mM $NaHCO_3$) zur Gerinnungshemmung behandelt. Von der gut gemischten Blutprobe wurden Aliquote zur Bestimmung des Hämatokrits, der ATP/GTP-Konzentrationen sowie der Hämoglobinkonzentration genommen (Beschreibung der Bestimmung der Hämoglobin- und organischen Phosphatkonzentrationen unter II.1.4.3.).

Die Bestimmung des Hämatokrits erfolgte in 10 µl Kapillaren mit einer Mikrohämatokritzentrifuge (Compur M1100, München).

Der Rest des Blutes wurde im Eis aufbewahrt. Jeweils 50 µl dieses Blutes wurden für 20 Minuten bei 15°C im Tonometer (BMS II, Radiometer, Kopenhagen) mit definierten Gasgemischen äquilibriert (Gasmischpumpen 303/a-F, Wösthoff, Bochum), wobei für die verschiedenen Sauerstoffbindungskurven Pco_2-Werte zwischen 0,75 und 6,1 Torr zum Äquilibrieren gewählt wurden, um den pH zu variieren. Die Bestimmung des gesamten Sauerstoffgehaltes erfolgte mit jeweils 10 µl Probenvolumen mit der Methode nach Tucker (1967). Bei dieser Methode wird der an Hämoglobin gebundene Sauerstoff durch Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin freigesetzt und die entsprechende Veränderung des Sauerstoffpartialdruckes polarographisch bestimmt. Die Meßkammer wurde mit einem Wasserbad auf 30°C temperiert. Sie enthielt 0.01 M $K_3Fe(CN)_6$ Lösung mit 0.1% Saponin zur Freisetzung des Sauerstoffs. Der Po_2 wurde mit einer O_2-Elektrode (E 5046, Radiometer) bestimmt, die an einen Sauerstoffmonitor (Strathkelvin Instruments, Glasgow, Großbritannien) angeschlossen war. Der Monitor war wiederum mit einem Flachschreiber (Tekman) verbunden.

In der Nähe der Halbsättigung des Blutes (P_{50}) wurde der pH-Wert mit einer Mikrokapillarelektrode (Typ G 299, im BMS II, Radiometer) und einem PHM 84 Säure-Basen-Analysator (Radiometer) bestimmt.

Für die Berechnung der gelösten O_2-Fraktion und der Konzentration an HbO_2 wurde der Löslichkeitskoeffizient nach Altman und Dittmer (1971) verwendet:

$$\alpha o_2 = 0{,}00182 \text{ mmol} \cdot l^{-1} \cdot \text{Torr}^{-1}$$

$$Co_2 = HbO_2 + \alpha o_2 \cdot Po_2$$

Die relative Sättigung ergibt sich aus dem Verhältnis der jeweiligen HbO_2-Konzentration zur HbO_2 - Konzentration bei Vollsättigung des Pigments. Die logarithmische Auftragung des Po_2 gegen die relative Sättigung ($So_2/1-So_2$) ergibt das sogenannte Hill-Diagramm. Für Sättigungswerte im Bereich zwischen 25% und 75% erhält man gewöhnlich eine Gerade,

deren Steigung dem Hill- Koeffizienten n entspricht, der ein Maß für die Kooperativität des tetrameren Hämoglobins ist (Wyman, 1964). Weiterhin läßt sich bei dieser Art der Darstellung der Logarithmus des P_{50} direkt als Schnittpunkt dieser Geraden mit der Abszisse (log $So_2/1-So_2 = 0$) ablesen.

Zur Analyse des Root-Effekts (Root, 1931) ist die Messung der Sauerstoffkapazität in Abhängigkeit vom pH erforderlich. Um die verschiedenen pH-Werte einzustellen, wurde das Blut in vier gleiche Teile geteilt. Von drei der vier Teile wurde nach dem Zentrifugieren (5 Minuten bei 10000 Upm) ein Aliquot des überstehenden Plasmas entfernt und durch ein entsprechendes Volumen an 0.1 M HCl oder 0.1 M $NaHCO_3$ in Fischringerlösung ersetzt. Nach dem Resuspendieren erhält man so vier Proben mit unterschiedlichem pH-Wert, welche im Tonometer bei hohem Po_2 (350 Torr) mit unterschiedlichen Pco_2-Partialdrücken (0.75 - 7.5 Torr) zur weiteren Veränderung des pH-Wertes äquilibriert werden. Die weitere Bestimmung des Sauerstoffgehaltes (Co_2) sowie des pH-Wertes der äquilibrierten Proben erfolgte wie bereits oben beschrieben.

1.3.4. CO_2-Bindungskurven von Blut- und Gewebehomogenaten

Die Puffereigenschaften des Blutes und des Muskelgewebes wurden durch Äquilibration der entsprechenden Homogenate mit verschiedenen CO_2-Partialdrücken und anschließender Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes untersucht. Durch eine derartige Analyse des CO_2-Bindungsvermögens eines Homogenats läßt sich die Pufferkapazität des Nicht-Bikarbonat-Puffers β_{NB} bestimmen (Heisler und Piiper, 1971). β_{NB} ist definiert als Änderung der Bikarbonatkonzentration in Abhängigkeit vom pH-Wert (dargestellt im pH-Bikarbonat-Diagramm).

$$\beta_{NB} = - \frac{\Delta HCO_3^-}{\Delta pH}$$

a) CO_2-Bindungskurven des Blutes

Die Blutentnahme erfolgte wie unter II.1.3.3. beschrieben. Es wurden Proben für die Bestimmung der Hämoglobin- und der organischen Phosphatkonzentrationen (Bestimmung siehe

II.1.4.3.) sowie des Hämatokrits (Bestimmung siehe II.1.3.3.) entnommen. Aliquote des Blutes von Lumpenus wurden 20 Minuten bei 15°C im Tonometer (BMS II, Radiometer) entweder bei Po_2 = 0 Torr (desoxygeniertes Blut) oder bei Po_2 = 350 Torr (oxygeniertes Blut) mit unterschiedlichen CO_2-Partialdrücken (0.75 - 7.5 Torr) äquilibriert (Wösthoff Gasmischpumpen Typ 303/a-F), und anschließend wurde der totale CO_2-Gehalt gemessen. Die Bestimmung erfolgte nach Cameron (1971) (vgl. II.1.3.1.).

Nach einer Voreichung mit Gasgemischen erfolgte die weitere Kalibration mit 5 mM $NaHCO_3$ Lösung. Es wurden Doppelbestimmungen mit jeweils 10 µl Probe durchgeführt. Die 0.1 M HCl Lösung zur Freisetzung des CO_2 enthielt 0.1% Saponin für die Lyse der Blutzellen. Die pH-Bestimmung erfolgte für jede Äquilibration wie in II.1.3.3. ausgeführt. Unter Verwendung des Löslichkeitskoeffizienten αco_2 = 0.0589 $mmol \cdot l^{-1} \cdot Torr^{-1}$ (Altman und Dittmer, 1971) konnte die Fraktion des physikalisch gelösten CO_2 sowie die Bikarbonatkonzentration berechnet werden.

$$Cco_2 = HCO_3^- + \alpha co_2 \cdot Pco_2$$

Der apparente pK'-Wert der Kohlensäure wurde mit der Henderson-Hasselbalch-Gleichung bestimmt.

$$pK' = pH - \log \frac{HCO_3^-}{\alpha CO_2 \cdot Pco_2}$$

b) CO_2-Bindungskurven von Gewebehomogenaten

Das Muskelgewebe mußte zunächst homogenisiert werden. Etwa 2 g gefrorenes Gewebe wurden zermörsert und in dem exakt 4-fachen Volumen (Gewicht = Volumen) an Fischringerlösung ($NaHCO_3$ = 1 mM) aufgenommen und unter Eiskühlung 5 x 30 Sekunden mit einem Ultra Turrax (Jahnke und Kunkel, Staufen) homogenisiert.

Die Äquilibration mit CO_2 sowie die Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes erfolgten wie oben ausgeführt, zum Äquilibrieren wurde jedoch ein Tonometer Modell 273 (Instrumentation Laboratory, Paderno Dugano, Italien) einge-

setzt. Die Doppelbestimmungen erfolgten mit jeweils 50 µl Probenvolumen. Es wurde jeweils 1 ml bei einer Temperatur von 15°C äquilibriert . Die Verwendung der Ringerlösung für die Homogenatherstellung machte zudem die Bestimmung der Löslichkeit von CO_2 in der Ringerlösung sowie im Homogenat erforderlich. Dieses geschah durch Ansäuerung der Ringerlösung bzw. des Homogenats mit 0.1 M HCl im Verhältnis 2:1 und Äquilibrierung mit 10% CO_2 bei einem Po_2 von 350 Torr mit anschließender Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes. Das Ansäuern der Proben gewährleistet die vollständige Umwandlung allen vorhandenen Bikarbonats in CO_2.

Aus diesen Ergebnissen kann nun unter Berücksichtigung der Volumenanteile an Ringerlösung und Gewebe im Homogenat die Bikarbonatkonzentration des Gewebewassers und letztlich die des Gewebes berechnet werden (Bridges und Scheid, 1982). Die Bikarbonatkonzentration des Gewebewassers ergibt sich aus:

$$HCO_3^-{}_{Hw} = \frac{1}{Fg \cdot Fw + Fr} \cdot HCO_3^-{}_H$$

$HCO_3^-{}_{Hw}$ = Bikarbonatkonz. des Gewebewassers
Fg = Fraktion Gewebe
Fw = Fraktion Gewebewasser
Fr = Fraktion Ringerlösung
$HCO_3^-{}_H$ = Bikarbonatkonz. des Homogenats

Unter der Voraussetzung, daß die Löslichkeit des CO_2 im Gewebewasser genauso groß ist wie in der Ringerlösung, kommt man bei Anwendung der Henderson-Hasselbalch-Gleichung zu folgendem Ausdruck:

$$pH - pk' = \log \frac{HCO_3^-{}_{Hw}}{\alpha_r \cdot Pco_2}$$

α_r = Löslichkeitskoeffizient für CO_2 in Ringerlösung

Die Auftragung von $HCO_3^-{}_{Hw}$ gegen pH - pk' ergibt eine Gerade, die Pufferlinie des Homogenatwassers. Die Steigung der Geraden entspricht der Pufferkapazität des Homogenatwassers $ß_{Hw}$. Diese Pufferkapazität setzt sich zusammen aus dem Pufferwert des Gewebes und dem der Ringerlösung. Da die

Ringerlösung ungepuffert ist, ist somit die Pufferkapazität des Gewebes durch die Verdünnung (Verdünnungsfaktor V_f) mit der Ringerlösung entsprechend verringert.

$$\beta_{Gw} = \beta_{Hw} \cdot V_f$$

$$= \beta_{Hw} \frac{Fg \cdot Fw + Fr}{Fg \cdot Fw}$$

β_{Gw} = Pufferkapazität des unverdünnten Gewebewassers

Diese Pufferlinie schneidet die Puffergerade des Homogenatwassers in Höhe der Bikarbonatkonzentration der Ringerlösung. Zwei Lösungen gleicher Bikarbonatkonzentration haben bei gleichem Pco_2 auch den gleichen pH-Wert, und ein Gemisch dieser Lösungen sollte gleichfalls diese Werte aufweisen. Aus dieser Graphik läßt sich $HCO_3^-{}_{Gw}$ ablesen, und der Bikarbonatgehalt des Gewebes kann berechnet werden aus der Gleichung:

$$HCO_3^-{}_G = HCO_3^-{}_{Gw} \cdot Fw$$

1.4. Biochemische Analysen

1.4.1. Chemikalien und Meßgeräte

Es wurden handelsübliche Chemikalien und Enzyme der Firmen Merck (Darmstadt), Serva (Heidelberg) sowie Boehringer GmbH (Mannheim) verwendet.

Die optischen Tests erfolgten an Photometern Typ Uvikon 710 bzw. 810 (Kontron, Düsseldorf). Für die Bestimmung von Enzymaktivitäten wurde auch ein Shimadzu Spektrophotometer Typ UV-120-02 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) eingesetzt.

1.4.2. Extraktion zur Bestimmung von Metaboliten

Die Extraktion der Metabolite aus den Blut- und Gewebeproben erfolgte unter Eiskühlung mit 0,6 M Perchlorsäure (PCA). 100 µl Blut (bei geringen Probenvolumina 50 µl) wurden mit 100 µl PCA gemischt und dann 5 Minuten bei 10000 Upm zentrifugiert (Eurohamazentrifuge Modell 85-1, Runne, Heidelberg). Der Überstand wurde mit 5 M K_2CO_3 neutralisiert und der Niederschlag erneut abzentrifugiert. Der Überstand wurde als

Extrakt zur enzymatischen Analyse eingesetzt.

Die in flüssigem Stickstoff gefrorenen Muskelproben wurden zunächst im Mörser zerrieben und dann im 4-fachen Volumen 0,6 M PCA aufgenommen. Zur Homogenisation stand ein Ultra Turrax (Jahnke und Kunkel, Staufen) zur Verfügung. Das Homogenat wurde in der Kühlzentrifuge (Hermle ZK 400, Kontron, Düsseldorf) 10 Minuten bei 20000 Upm zentrifugiert und der Überstand mit 5M K_2CO_3 neutralisiert. Nach erneutem Zentrifugieren (10 Minuten bei 10000 Upm) wurde der Überstand zur enzymatischen Analyse eingesetzt.

1.4.3. Enzymatische Bestimmung der Metabolite

Die Konzentration aller Metabolite wurde in enzymatisch optischen Testverfahren nach Warburg und Christian (1936) bestimmt. Die Testverfahren im einzelnen waren wie folgt: Creatinphosphat, ATP und Glucose-6-phosphat nach Lamprecht et al. (1974), ADP und AMP nach Jaworek et al. (1974), Laktat nach Gutmann et al. (1974), D-Glucose nach Bergmeyer et al. (1974). Äthanol wurde mit einem Testkit (Boehringer, Mannheim) getestet.

Die Bestimmung der organischen Phosphate ATP und GTP in Blutproben wurde gemäß Albers und Goetz (1983) durchgeführt. Dieser Test erfaßt mit der Nucleotiddikinase-Reaktion alle Nucleotidtriphosphate. Da jedoch bisherige Dünnschichtchromatographie- und HPLC- Analysen ergeben haben, daß in Fischblut außer ATP und GTP alle anderen Triphosphate höchstens in vernachlässigbar geringen Spuren vorhanden sind (Weber, Lykkeboe und Johansen, 1976; Weber, Wood und Lomholt, 1976; Leray, 1979; Albers und Goetz, 1983), wird davon ausgegangen, daß mit dieser Bestimmung die GTP-Konzentration erfaßt wird.

Für die Hämoglobinbestimmung wurden 40 µl Blut in 1,5 ml Fischringerlösung aufgenommen und 5 Minuten bei 10000 Upm zentrifugiert (Eurohamazentrifuge Modell 85-1, Runne, Heidelberg). 1,5 ml Überstand wurden wieder verworfen. Nach einer Lyse der Blutzellen durch 20 µl Saponin (1%-ig) und Zugabe von 2 ml 0,0167 M Phosphatpuffer pH 7,4 wurde der Zelldebris abzentrifugiert. Von dem Überstand konnte im

Photometer (Uvikon 810, Kontron) ein Spektrum zwischen λ = 450 und 700nm aufgezeichnet werden. Die Auswertung erfolgte unter Anwendung des Extinktionskoeffizienten $\lambda_{540,575nm}$ = 13,4 (Antonini und Brunori, 1971).

1.4.4. Bestimmung von Enzymaktivitäten

Bestimmungen von Enzymaktivitäten erfolgten ebenfalls in standardisierten Meßverfahren bei 25°C. Die Homogenisation der Muskelproben erfolgte 5 x 10 Sekunden mit dem Ultra Turrax (Jahnke und Kunkel, Staufen) in dem 4-fachen Volumen an Homogenisationsmedium unter Eiskühlung. Gefrorene Proben mußten zunächst im Mörser zerrieben werden. Nach 15-minütigem Zentrifugieren in der Kühlzentrifuge (Hermle ZK 400, Kontron) wurde der Überstand als Homogenat zur Aktivitätsbestimmung eingesetzt.

Die Enzyme Laktatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Creatinkinase (EC 2.7.3.2), Hexokinase (EC 2.7.1.1) Pyruvatkinase (EC 2.7.1.40), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (EC 2.6.1.1), Glutamat-Pyruvat-Transaminase (EC 2.6.1.2), Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37) und Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase (EC 1.2.1.12) wurden in einem Medium bestehend aus 50 mM TRA/HCl, 1 mM EDTA, 2 mM $MgCl_2$ sowie 30 mM Mercaptoäthanol bei pH 7,4 homogenisiert (Zammit und Newsholm, 1976). Die Homogenisation für die Bestimmung der Phosphofructokinase-Aktivität erfolgte in einem Puffer aus 70 mM Tris/HCl pH 8,2; 1 mM EDTA und 5 mM $MgSO_4$ (Zammit und Newsholm, 1976) und für die Bestimmung der Citratsynthase-Aktivität in einem Puffer aus 25 mM Tris/HCl pH 7,4 und 1 mM EDTA (Alp et al., 1976). Das Homogenisationsmedium für die Phosphorylase enthielt 50 mM TRA/HCl pH 7,4, 5 mM EDTA und 20 mM NaF.

Die Bestimmung der Aktivitäten der Enzyme erfolgte nach folgenden Autoren: Creatinkinase nach Forster et al. (1974), Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase nach Bergmeyer und Bernt (1974), Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase und Phosphorylase nach Bergmeyer et al. (1974), Hexokinase nach Zammit und Newsholm (1976), Pyruvatkinase nach Zammit et al. (1978), Malatdehydrogenase nach Driedzic und Stewart (1982), Citratsynthase nach Alp

et al. (1976) und Phosphofructokinase nach Zammit et al. (1976). Die Laktatdehydrogenase wurde in einem Medium bestehend aus 50 mM TRA/HCl, 2,5 mM Pyruvat, 0,15 mM $NADH+H^+$ sowie 2,5 mM EDTA bei pH 7,0 getestet.

1.5. Inkubationen unter Hypoxie

Für die Inkubationen zur Analyse des Energiestoffwechsels unter Sauerstoffmangel wurden die Fische in kleineren Aquarienbecken mit ca. 15 Litern Wasserinhalt gehalten. Die normoxe Adaptationszeit für die einzelnen Versuchsgruppen zu je 5 Fischen betrug etwa 20 Stunden in gut belüftetem Wasser. Die Versuche mit Lumpenus in Millport wurden bei einer Temperatur von $15\pm1^{o}C$ durchgeführt.

Die Einstellung des gewünschten Po_2 erfolgte mit Gasmischpumpen (Wösthoff, Bochum). Es wurden Gasgemische bestehend aus Luft und Stickstoff eingesetzt. Nach einer Inkubationszeit von 7 Stunden wurde durch einen vorher vorbereiteten Schlauch eine Betäubungslösung in das Becken gegeben (Endkonzentration 0.1 $g \cdot l^{-1}$ MS 222). Nach 10 - 15 Minuten waren die Tiere betäubt. Aus der Caudalvene wurde nun mit heparinisierten Spritzen (500 $IU \cdot ml^{-1}$ Fischringerlösung) eine Blutprobe von 100 - 150 µl gewonnen. Muskelproben wurden der Schwanzmuskulatur hinter dem After entnommen (weitere Aufarbeitung der Proben siehe II.1.4.2.).

2. Untersuchungen mit Blennius pholis

2.1. Allgemeine Vorbemerkungen, Parallelen zu den Untersuchungen mit Lumpenus

Ein Charakteristikum einer vergleichenden physiologischen Arbeit ist der Einsatz gleicher Methoden bei Versuchen mit unterschiedlichen Arten. So wurden auch in dieser Studie sowohl bei den Experimenten mit Lumpenus als auch bei denen mit Blennius identische Techniken zur Anwendung gebracht. Dieses betrifft die Bestimmung der Gasaustauschraten im Wasser (vgl. II.1.3.1.), die Messung der Ventilationsfrequenz (vgl. II.1.3.2.), die gesamten biochemischen Bestimmungen (vgl. II.1.4.) sowie die Inkubationen zur Hypoxie (vgl. II.1.5.).

Die angemessene Berücksichtigung von speziellen Anpassungen eines jeweiligen Versuchsobjektes an ein Biotop erfordert jedoch häufig den Einsatz von speziellen Methoden. Im Hinblick auf Blennius pholis wird dies besonders deutlich in bezug auf die Luftatmung (vgl. S. 24ff).

Diese im Vergleich zur Arbeit mit Lumpenus veränderten bzw. gänzlich neuen Methoden seien im folgenden besprochen.

2.2. Beschaffung und Haltung von Blennius

Blennius pholis (Blenniidae, Blennioidea, Perciformes) wurde während der Ebbe in den Felstümpeln vor der biologischen Station Roscoff (Frankreich), insbesondere auf der Ile de Batz, gefangen. Die Fangzeiten waren im Frühjahr (Februar, März), im Sommer (Juni oder Juli) und im Herbst (Oktober). Von dort erfolgte der Transport der Fische nach Düsseldorf. Nach einer 2 bis 3-tägigen Behandlung mit Furanace (Pahlsmeyer, Telgte) gegen Pilzbefall (10 $mg \cdot l^{-1}$) sowie - unter Mitwirkung des Löbbecke Aquariums in Düsseldorf - mit Masoten (Bayer, Leverkusen) gegen Würmer (0,6 ppm) wurden sie in einer Aquarienanlage mit künstlichem, rezirkulierendem Seewasser (Poseidon Seesalz, Wiegandt, Krefeld; Temp. 13 $\pm$ 2°C) gehalten. Die Fische wurden 3 mal wöchentlich mit Fleisch von Loligo, Mytilus oder Patella, gelegentlich auch mit Carcinus gefüttert. So konnten die Tiere für mehrere Monate

gehalten werden, ohne daß Anzeichen für Mangelerscheinungen oder Erkrankungen auftraten.

Das Gewicht der für die Versuche eingesetzten Tiere betrug 13,3 - 81,8 Gramm, die Versuchstemperatur 12,5°C.

Anhand von morphologischen Merkmalen hat Bath (1976) die Systematik der Blenniini neu überarbeitet. Im Rahmen dieser Studie wurde Blennius pholis Linnaeus, 1758 umbenannt in Lipophrys pholis Gill, 1896. Dieser Name hat sich jedoch in der Literatur noch nicht durchgesetzt, und daher wird auch im folgenden der Name Blennius pholis beibehalten.

2.3. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie

2.3.1 Sauerstoffverbrauch und CO_2-Ausscheidung im Wasser und bei Luftatmung

Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs sowie der CO_2-Ausscheidung von Blennius im Wasser erfolgte wie in II.1.3.1. angegeben. In dem künstlichen Seewasser war eine Atmungsaktivität von Mikroorganismen nicht nachweisbar, so daß das Wasser nicht gefiltert werden mußte.

Für die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs sowie der CO_2-Ausscheidung von Blennius pholis bei Luftatmung wurden die Tiere mindestens 15 Stunden vor der ersten Messung in das Respirometer eingesetzt. Der Wasserkreislauf war geöffnet. Am Ende der Adaptationszeit wurde der Wasserfluß unterbrochen und das Respirometer über einen Ausgang im Boden des Gefäßes entleert. Der an den Wänden haftenbleibende Wasserfilm war ausreichend, um ein Austrocknen der Fische zu verhindern, andererseits aber auch nicht so groß, daß die Ergebnisse - insbesondere die CO_2-Messungen - verfälscht werden konnten Anschließend wurde das Versuchsgefäß noch für einige Minuten über eine Membranpumpe mit Luft versorgt. Gegen Ende dieser Vorbereitungen wurden 1-2 Luftproben von jeweils etwa 1,2 ml entnommen, die die Gaszusammensetzung zur Zeit t = 0 ergaben. Direkt nach dieser Probennahme wurde das Respirometer verschlossen. An den einen Ausgang wurde ein Manometer (Hugo Sachs Elektronik, March) angeschlossen, um eventuelle Druckänderungen im Respirometer feststellen zu

können. Druckänderungen waren jedoch in keinem Fall meßbar. Das Respirometer blieb maximal für 4 Stunden geschlossen, und zu jeweils festgelegten Zeiten konnten Gasproben entnommen werden.

Für die Lokalisation des Gasaustausches wurde ein kompartimentiertes Respirometer eingesetzt. Es bestand aus 2 Plexiglaskammern, die durch eine 5 mm breite Schleuse mit zwei 0,8 mm starken gasdichten Neoprenmembranen getrennt waren. Das Volumen der vorderen Kammer betrug 170 ml, das der hinteren 350 ml. In jedem Teil befanden sich zwei Anschlüsse für den Wasserkreislauf sowie je zwei Kanülen für die Entnahme von Gasproben.

Im vorderen Teil des Respirometers befand sich der Kopf des Fisches mit den Operkularöffnungen, im hinteren Teil der Restkörper. Die Neoprenmembranen lagen dicht am Körper an, ohne ihn jedoch abzuschnüren. Falls erforderlich, wurden sie mit einem Tropfen Gewebekleber (Histoacryl, Braun Melsungen, Spangenberg) angeheftet. Die Neoprenmembranen wurden auf Gasdichtheit geprüft. Die vollständige Trennung der Kammern nach dem Einsetzen des Fisches wurde getestet, indem zunächst nur eine Kammer mit Wasser gefüllt wurde.

Bei diesen Versuchen wurde auf eine lange Adaptationszeit an das Respirometer verzichtet. Nach etwa zwei Stunden wurde das Wasser vorsichtig abgelassen, und anschließend konnten für ca. 1- 1,5 Stunden Gasproben entnommen und der Sauerstoffverbrauch bei Luftatmung gemessen werden.

Die Probennahme erfolgte mit speziellen Glaspipetten, die über eine Gummidichtung exakt in die in den Deckel des Respirometers eingesetzten Kanülen paßten. Die Zusammensetzung der Gasproben wurde manometrisch mit dem Mikro-Scholander (Eschweiler & Co, Kiel) bestimmt.

2.3.2. Erstellung von Sauerstoffbindungkurven

Die Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes von Blennius pnolis wurden spektrophotometrisch analysiert. 5 µl Proben wurden in einer Diffusionskammer (Escnweiler und Co, Kiel) mit definierten Gasgemischen äquilibriert. Der Oxygenie-

rungsgrad des Hämoglobins wurde mit dem Spektrophotometer (Eppendorf, 1101 M, Hamburg) bestimmt und mit einem Kompensationschreiber (Kipp und Zonen) aufgezeichnet. Die Äquilibration erfolgte mit der Diffusionstechnik (Sick, Gersonde, 1969, modifiziert nach Lykkeboe et al, 1975). Für die Mischung der entsprechenden Gase standen wiederum Gasmischpumpen (Typ 303/a-F, Wösthoff) zur Verfügung. Die Veränderung des pH - Wertes für die einzelnen Sauerstoffbindungskurven wurde durch Variation des Pco_2 zwischen 0,75 und 7,5 Torr erreicht. Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgte im Bereich der Halbsättigung wie bereits oben beschrieben.

2.4. *In vivo* Experimente mit Hilfe von Mikrokathetern

2.4.1. Implantation von Kathetern

Zur Untersuchung des Säure-Basen-Haushaltes von *Blennius pholis* wurde großen Tieren (Gewicht 50 - 80 g) ein Katheter in den Bulbus arteriosus implantiert. Der Katheterschlauch bestand aus einem Polyäthylenschlauch (PE 10, Clay Adams, Parsippany, USA), der durch Erwärmen über einen 0,2 mm starken, angespitzten Draht zu einer feinen Spitze ausgezogen war, aus der die Spitze des Drahtes noch ganz kurz hervorragte. Der Draht war 8 - 10 cm lang. Über das andere Ende des 6 - 8 cm langen PE 10 Schlauches war ein Stück Silastik-Schlauch geschoben. Dieser elastische Schlauch ermöglichte ein Vor- und Zurückschieben des Drahtes in dem PE 10 Schlauch.

Die Operation erfolgte unter Eiskühlung nach Betäubung der Tiere mit 0,1 $g \cdot l^{-1}$ MS 222 und dauerte etwa 15 - 20 Minuten. Der Fisch wurde ventral geöffnet und der Bulbus freipräpariert. Mit der Drahtspitze als Führung konnte der muskulöse Bulbus arteriosus vorsichtig angestochen und die Katheterspitze eingeschoben werden. Die Muskulatur schloß sich um die Schlauchspitze und verhinderte so stärkere Blutungen. Der Katheter wurde sofort durch einen feinen Tropfen Histoacryl Gewebekleber (Braun Melsungen AG, Spangenberg) fest mit dem Bulbus verbunden. Der Draht konnte nun zurückgezogen werden. Der Silastik- Schlauch wurde ca. 1 cm hinter dem Ende des PE 10 Schlauches abgeschnitten und über eine abge-

sägte Kanüle als Kupplung mit einem PE 50 Schlauch verlängert. Der ganze Katheter war mit 30 - 40 cm lang genug, um Blutproben entnehmen zu können, ohne das Tier zu beunruhigen. Alle verwendeten Katheterschläuche waren mit 240 IU Heparin pro ml Fischringerlösung behandelt.

Ein kleines Stückchen Fibrospum (Promonta, Heimberg) wurde vor dem Verschluß in die Wunde eingelegt, um eine eventuell auftretende Blutung zu stillen. Der Fisch wurde in gut belüftetes Seewasser eingesetzt. Nach einigen Minuten setzte bereits die Ventilation wieder ein. Die Experimente mit den katheterisierten Fischen begannen frühestens am folgenden Tag, um den Tieren genügend Zeit zur Erholung von der Operation zu geben.

2.4.2. Atmungsphysiologische Analysen der Blutproben

Die Blutproben (0,2 - 0,25 ml) wurden mit einer 1 ml Glasspritze abgenommen. Der Po_2 sowie der Pco_2 dieser Proben wurde mit einer O_2-Elektrode (E 5047, Radiometer) sowie mit einer CO_2-Elektrode (E 5037, Radiometer) im auf 12,5°C thermostatisierten BMS III (Radiometer) gemessen. Die Elektroden waren an einen Blutgasanalysator PHM 73 (Radiometer) angeschlossen, der wiederum mit einem Linseis 2-Kanal Flachschreiber verbunden war. Die Kalibration der Elektroden erfolgte mit den Gasen N_2, CO_2 sowie mit Luft (0,2 - 0,6% CO_2, 0 - 80% Luftsauerstoff), gemischt mit Hilfe von Gasmischpumpen (Wösthoff, Bochum). Die Bestimmung des Blut-pH sowie des Hämatokrits erfolgte mit einer Mikrokapillarelektrode im BMS II bzw. mit einer Hämatokritzentrifuge wie in II.1.3.3. beschrieben. Der totale CO_2-Gehalt wurde wie in II.1.3.1. ausgeführt nach Cameron (1971) bestimmt. Unter Anwendung des Löslichkeitskoeffizienten αCO_2 = 0,0636 mmol$\cdot l^{-1}$ (Altman und Dittmer, 1971) konnte hieraus der physikalisch gelöste Anteil des CO_2 sowie der Gehalt an Bikarbonat berechnet werden. Ergibt sich nun im Verlauf eines Versuchs eine Veränderung im Säure-Basen-Haushalt des betrachteten Kompartiments, so läßt sich anhand der gemessenen Werte für pH, Pco_2 und HCO_3^- die Gesamtmenge der unter diesen experimentellen Bedingungen freigesetzten oder gebundenen Protonen

berechnen.

$$\Delta H^+_{tot} = - \beta_{NB} \cdot \Delta pH - \Delta HCO_3^-$$

Diese Änderung kann durch respiratorische und bzw. oder metabolische Prozesse bedingt sein. Die Quantifizierung des respiratorischen Anteils erfolgt graphisch rechnerisch:

$$\Delta H^+_{resp} = - \beta_{NB} \cdot \Delta pH_{resp.}$$

Im pH-Bikarbonat-Diagramm ergibt sich die respiratorisch bedingte pH-Änderung durch Verschiebung entlang der Puffergeraden ausgehend vom Ruhewert bis zur Pco_2-Isobaren, die dem veränderten Pco_2 entspricht. Der metabolische Anteil resultiert dann aus der Differenz zwischen ΔH^+_{tot} und ΔH^+_{resp}.

$$\Delta H^+_{metab} = \Delta H^+_{tot} - \Delta H^+_{resp}$$

Die Berechnung der CO_2-Isobaren erfolgte nach der Gleichung:

$$HCO_3^- = \alpha \cdot Pco_2 \cdot 10^{(pH-pk')}$$

2.4.3. Aufzeichnung der Herzaktivität

Zur Aufzeichnung der Herzaktivität wurde der Katheterschlauch über einen Dreiwegehahn mit einem Druckaufnehmer (Elcomatic, EM 750) verbunden. Dieser war an den strain gauge coupler FC 137 des Washington Oszillographen (Bio-Science, Sheerness, Großbritannien) angeschlossen. Die Eichung des Druckaufnehmers erfolgte mit einem Manometer (Hugo Sachs, Elektronik, March).

2.5. Histologische Untersuchungen

2.5.1. Lokalisation der Carboanhydrase in verschiedenen Geweben

Zur Lokalisation der Carboanhydrase (EC 4.2.1.1.) in verschiedenen Geweben konnte eine Fluoreszenzmarkierung gemäß

der von Dermietzel et al. (1985) entwickelten Methode verwendet werden. Das Sulfonamid DNSA (Dimethylaminonaphthalensulfonamid) bindet an die Carboanhydrase. Der dabei entstehende Komplex hat eine von der Basisfluoreszenz des Sulfonamids deutlich unterscheidbare Fluoreszenz mit einem Maximum bei 468 nm (Chen und Kernohan, 1967). Die Präparation des DNSA erfolgte nach Weber (1952), alle sonstigen Präparationsschritte sind bei Dermietzel et al. (1985) beschrieben. Von Gewebeproben, die in mit flüssigem Stickstoff gekühltem Propan eingefroren worden waren, wurden am Kryostaten (Fa. Slee, Mainz) 8 - 10 µm dicke Gefrierschnitte gefertigt. Diese wurden in einer Lösung von 10^{-4} bzw. $3 \cdot 10^{-5}$ DNSA in 67 mM Phosphat-Puffer (pH 7,4) für 20 Minuten inkubiert.

Als Kontrolle wurden Schnitte in Phosphatpuffer ohne Farbstoff inkubiert und auf Eigenfluoreszenz untersucht. In einer weiteren Kontrolle wurden Schnitte zunächst 15 - 20 Minuten in Puffer mit $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid (Lederle, Wolfratshausen) inkubiert, dann wurde diese Flüssigkeit abgezogen und durch Puffer mit $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid sowie $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA ersetzt.

Für die mikroskopische Auswertung der Schnitte stand ein Zeiss Photomikroskop III mit Auflichtfluoreszenzeinrichtung zur Verfügung. Für die fotografischen Aufnahmen wurden Kodak Tri- X pan Filme sowie 3M- Diafilme (29 DIN) benutzt.

2.5.2. Histologische Untersuchungen des Ösophagus

Die Ausstattung des Ösophagus mit Blutgefäßen wurde histologisch untersucht. Der Ösophagus wurde präpariert und über Nacht im Kühlschrank in 0,1 M Cacodylatpuffer mit 2,5% Glutaraldehyd bei pH 7,2 fixiert. Anschließend erfolgte eine Nachfixierung in 2%igem OsO_4 im gleichen Puffer für eine Stunde. Nach der Entwässerung wurde das Gewebe dann in einem Epoxidharz nach Spurr (1969) eingebettet.

Für die lichtmikroskopische Auswertung (Zeiss Photomikroskop III) wurden Semidünnschnitte von 1 µm Dicke mit einem Glasmesser angefertigt.

2.6. Versuchsansätze mit Blennius pholis

2.6.1. Inkubationen zur Hypoxie

Die Inkubationen wurden wie bereits in II.1.5. beschrieben durchgeführt, allerdings nicht bei 15°C, sondern in einer Klimakammer bei 12,5°C. Außerdem wurde ein Gasgemisch bestehend aus N_2, Luft und 0,1% CO_2 bzw. 0,2% CO_2 bei Po_2-Werten niedriger als 60 Torr eingesetzt. Die Inkubationszeit betrug 6 Stunden.

2.6.2. Inkubationen zur Luftatmung

Bei den Versuchen zur Luftatmung von Blennius pholis wurde die Situation einer Ebbe simuliert (T = 12,5°C). Dieses geschah ebenfalls in Aquarienbecken, jedoch konnte jeweils nur ein Fisch eingesetzt werden. Der Boden des Beckens war mit ca. 1 cm Sand bedeckt. In der Mitte lag ein Stein, der dem Fisch Unterschlupf bot. Etwa eine Stunde nach dem Einsetzen war der Fisch gewöhnlich unter dem Stein verborgen. Nun wurde das Wasser langsam abgelassen und der Stein vorsichtig abgehoben. Der Fisch lag meistens regungslos auf dem Sand, nur gelegentlich versuchte er sich durch Schwanzbewegungen neue Deckung zu verschaffen. Der Stein wurde anschließend wieder in die alte Position gebracht und das Becken langsam mit gut belüftetem Wasser gefüllt. Dieser Vorversuch bewirkte, daß fast alle Fische bei einer Wiederholung dieses Versuchs völlig bewegungslos ausharrten, wenn der Stein entfernt wurde. Am folgenden Tag konnte dann das Wasser wieder langsam abgelassen werden, und das jeweilige Tier war bis zu 6 Stunden ohne Zugang zum Wasser unter dem Stein verborgen. Am Ende der Versuchszeit wurde der Stein wieder vorsichtig entfernt und der Fisch am Schwanzende mit einer Wollenberger-Zange gepackt und sofort ganz in flüssigen Stickstoff eingetaucht. Auf einem tellerartigen Aluminiumblock konnten unter Stickstoffkühlung kleine Muskelstückchen aus dem Schwanzende herausgebrochen und für die weitere Extraktion eingesetzt werden (siehe II.1.4.2.). Als Kontrolltiere dienten Fische, die direkt nach dem Trockenfallen eingefroren wurden.

2.6.3. Versuchsansätze mit katheterisierten Tieren

Zunächst wurde den Tieren, die sich in normoxem Wasser (Po_2 = 150 Torr) befanden, mit einer 1 ml Glasspritze (heparinisiert mit 240 IU $\cdot ml^{-1}$ Fischringerlösung) eine Blutprobe (0,2 - 0,25 ml) abgenommen. Nach der Analyse dieser Probe wurde das verbliebene Blut wieder über den Katheter injiziert, um eine Anämie der Fische zu verhindern. Im Anschluß daran wurde das Wasser des Aquarienbeckens langsam abgelassen, so daß der Fisch nach etwa 20 Minuten auf dem feuchten Sand ohne Zugang zum Wasser lag. Nach drei Stunden Luftatmung wurde eine weitere Blutprobe (Verfahrenstechnik s.o.) genommen und analysiert. Gemessen wurden jeweils atmungsphysiologische Parameter (pH, Po_2, Pco_2, Cco_2, Hämatokrit; siehe II.2.4.2.), und in einigen Fällen wurden 50 oder 100 µl zur biochemischen Analyse eingesetzt (Laktat; siehe II.1.4.3.).

In einer weiteren Versuchsserie wurde dem Blut der ersten Probenentnahme Methazolamid (Lederle, Wolfratshausen) mit einer Endkonzentration von 10^{-4} $M \cdot kg^{-1}$ Körpergewicht beigefügt, bevor es dem Fisch wieder injiziert wurde. Das Sulfonamid Methazolamid ist ein Inhibitor der Carboanhydrase (EC 4.2.1.1.). Die weitere Behandlung der Tiere erfolgte wie oben beschrieben.

3. Statistische Auswertung der Ergebnisse

In Abhängigkeit von den Versuchsbedingungen aufgetretene Veränderungen in den jeweils gemessenen Parametern wurden unter Anwendung des U-Tests von Wilcoxon, Mann und Whitney (Sachs, 1978) auf ihre Signifikanz überprüft. Dieser Test ist geeignet zum Vergleich unabhängiger Stichproben und setzt keine Normalverteilung voraus. Angegeben ist jeweils der sogenannte p-Wert. Ein signifikanter Unterschied zu den Kontrollwerten liegt vor bei $p<0,05$.

III. Ergebnisse

1. Untersuchungen an Lumpenus lampretaeformis

1.1. Beobachtungen zum Grabverhalten und Messungen zur Sauerstoffversorgung im Bau von Lumpenus lampretaeformis

Nachdem bereits seit vielen Jahren vermutet wurde, daß Lumpenus eine grabende Lebensweise hat, gelang es jedoch erst in den letzten Jahren (Nash, 1980), Bauten von Lumpenus zu beschreiben, die in einem künstlichen Biotop angelegt worden waren (vergl. S. 2). In dieser Arbeit sollte daher einmal das Grabverhalten und zum anderen die Ventilation der Bauten untersucht werden.

1.1.1. Grabtätigkeit des Lumpenus

Zunächst wurden einige Fische einzeln in kleine, ca. 10 - 20 Liter fassende, rechteckige Plexiglasbecken eingesetzt. Die Becken, deren Boden mit einer 5 - 10 cm dicken Schlickschicht bedeckt war, wurden ständig mit fließendem Seewasser versorgt. Nach 3 - 4 Tagen hatte keiner der Fische versucht, einen Bau anzulegen. Daraufhin wurden 12 Fische zusammen in einen großen runden Tank (Durchmesser ca. 1,3 m, Höhe etwa 1 m) eingesetzt. Bereits am nächsten Tag waren in der etwa 30 cm dicken Schlammschicht, die den Boden des Beckens bedeckte, die Öffnungen von einigen Bauten zu erkennen. Am darauf folgenden Tag wurde ein Fisch beim Anlegen eines Baues beobachtet und ein Videofilm hierüber aufgezeichnet.

Die Abbildung 3 zeigt einige charakteristische Standbilder dieser Aktivitäten. Zunächst schuf der Fisch sich eine längliche Mulde. Hierzu wälzte und schob sich das Tier auf der Ventralseite hin und her. Der Fisch blieb hierbei langgestreckt und benutzte vor allem die Brustflossen als Stützorgane. Auf Abbildung 3a erkennt man diese Mulde, die in etwa der Länge des Fisches entspricht und am Kopfende ihren tiefsten Punkt hat.

Anschließend begann Lumpenus mit der Anlage des eigentlichen Baues. Der Fisch versuchte, sich mit der pfeilförmigen Schnauze voran in den Boden hineinzubohren. Der Ansatzpunkt

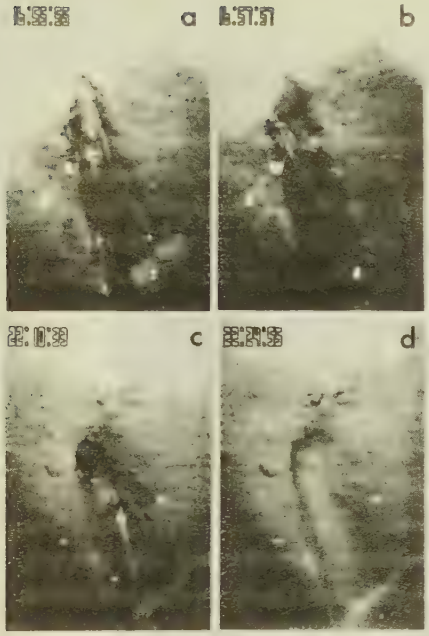

Abb. 3
Verschiedene Phasen der Grabaktivität zu Beginn der Bauentstehung

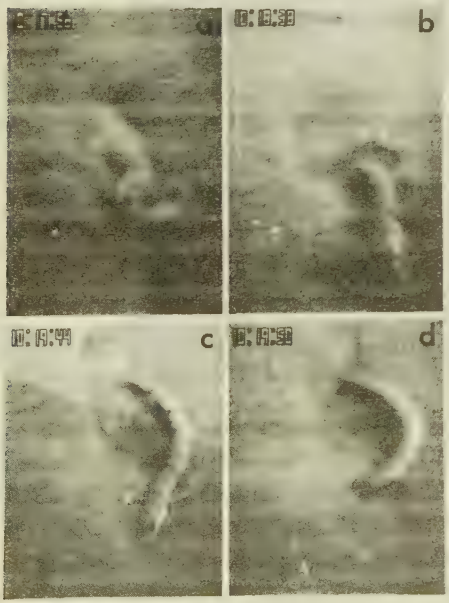

Abb. 4
Verschiedene Phasen der Grabaktivität kurz vor Fertigstellung des Baues. Diese Bilder wurden im Verlauf von zwei Minuten aufgenommen (siehe Zeitanzeige).

war jedoch nicht exakt die Spitze der Mulde, sondern kurz davor auf der linken Seite (Abb. 3b). Nach 5 Stunden war bereits eine klare Höhlung geschaffen (Abb. 3c). Die Spitze der ursprünglich angelegten Mulde war nicht mehr zu erkennen. Die Höhlung war bereits so tief, daß beim Graben nur noch das Schwanzende aus der Öffnung herausschaute. Der Fisch bohrte sich durch peitschenartige Bewegungen des Schwanzes mit dem Kopf voran in den Boden. Diese Aktivitätsphasen dauerten jeweils nur wenige Sekunden, und der Fisch verließ anschließend den Bau. Beim Graben wurde sehr viel Sediment aufgewirbelt und somit die Beobachtung des Tieres stark behindert.

Die Abb.4 zeigt eine Aktivitätsphase des Fisches, aufgezeichnet am folgenden Vormittag innerhalb von 2 Minuten. Der Fisch war während des Grabens vollständig im Bau verschwunden, und große Sedimentwolken stiegen aus der Öffnung (Abb. 4a). Der Bau mußte im Inneren bereits so groß sein, daß der Fisch sich herumdrehen konnte, denn er kam mit dem Kopf zuerst wieder heraus (Abb. 4b). Durch tiefe Atembewegungen und Schütteln befreite der Fisch seinen Körper und vor allem seine Kiemen von anhaftenden Schlammpartikeln (Abb. 4b u. 4c). Nach kurzer Pause begann er einen neuen Grabzyklus (Abb. 4d).

In Abb. 3c und 3d sind einige Schlammbröckchen zu erkennen. Der Ursprung dieser Partikel war nicht zu klären. Es konnte nicht beobachtet werden, daß der Fisch mit der Schnauze grub und dann den Schlamm ausspuckte.

Am Nachmittag dieses Tages brach dann die zweite Öffnung durch, so daß dieser Fisch seinen Bau innerhalb von 24 Stunden als einfache Röhre fertiggestellt hatte.

1.1.2. Beschreibung des Baues

Zum Abschluß der Beobachtungen und Messungen wurden die angelegten Bauten mit einem Kunstharz ausgegossen. Die 12 Fische, die einige Wochen zuvor in diesen Tank eingebracht worden waren, konnten alle vor oder während des Ausgießens wieder eingefangen werden. Das System von Bauten, welches in Abbildung 5a dargestellt ist, ist also auf die gemeinsame

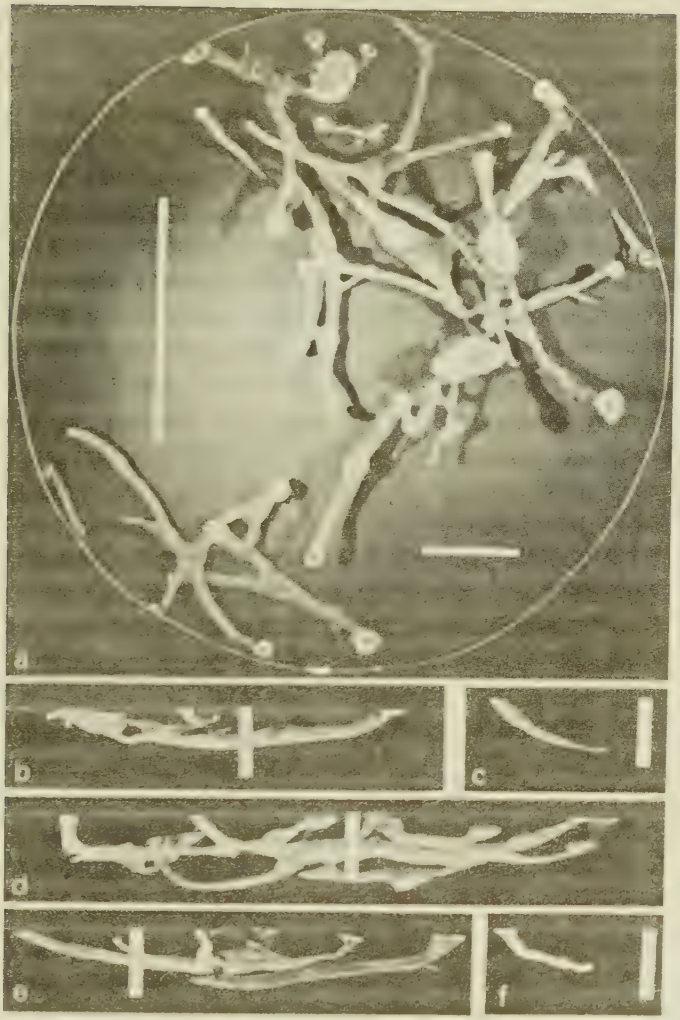

Abb. 5
a) Übersicht über das Bausystem, das von 12 Fischen im Verlauf der Untersuchungen in dem Aquarientank von 1,3 m Durchmesser angelegt wurde
b - f) Einzelne Bauanlagen aus dem Bausystem

Aktivität dieser 12 Fische zurückzuführen. Dieses auf den ersten Blick verwirrende System von Bauten, die miteinander verbunden bzw. ineinander verschachtelt waren, ließ sich in fünf Komplexe zerlegen.

Zwei Teile waren sehr einfach gebaut. Vermutlich waren sie noch nicht fertiggestellt oder aber bereits verlassen und zum Teil kollabiert (Abb. 5c, 5f). Die anderen 3 Teile waren sehr komplex. Dennoch waren bestimmte Merkmale herauszuarbeiten. Die Bauten waren sehr flach und drangen kaum tiefer als 10 cm in den Boden ein. Außerdem war immer wieder die bereits von Nash (1980) beschriebene Form des Y zu erkennen. Besonders deutlich wird dieses in Abb. 5e. Die hier dargestellten Bauten waren miteinander verbunden. Beide Bauten besaßen die Grundform eines Y, an dem linken Bau war allerdings noch ein vierter, sehr kleiner Ausgang zu sehen. Auch in dem großen Komplex (Abb. 5d) waren an mehreren Stellen Y-förmige Gabelungen zu erkennen.

Die Höhlungen wurden in einem Winkel von etwa 30° bis 50° zur Sedimentoberfläche gegraben. Die Öffnungen dieser Bauten schienen etwas ausgeweitet, was besonders gut in der Aufsicht zu erkennen ist (Abb. 5a). Dieses wurde vermutlich durch die Berührung der Fische beim Passieren des Ausgänge hervorgerufen. Es könnte auch schon beim Anlegen des Baues durch die heftigen Bewegungen des Schwanzes verursacht sein. Die Röhren der Bauten waren oft etwas unregelmäßig und hatten einen leicht ovalen Querschnitt. An einigen Stellen waren leichte Ausbuchtungen zu erkennen, die den Fischen vermutlich genügend Raum boten, sich im Bau umzudrehen.

1.1.3. Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus

Mit einem Katheterschlauch, der durch eine Öffnung einige Zentimeter weit in den Bau hineingeschoben wurde (vgl. Abb. 1, S. 10), konnte kontinuierlich eine geringe Wassermenge angesaugt und der Po_2 sowie der Pco_2 in diesem Wasser bestimmt werden. Es ergaben sich charakteristische, mehr oder weniger rhythmisch auftretende Auf- und Abbewegungen in den Partialdrücken des Sauerstoffs und des Kohlendioxids (Abb. 6). Falls die Katheterschlauchspitze durch das relativ

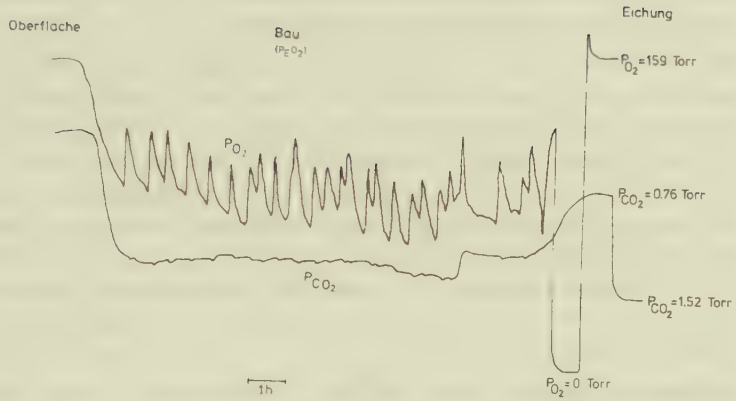

Abb. 6
Aufzeichnung des Po_2 und Pco_2 an einer Bauöffnung

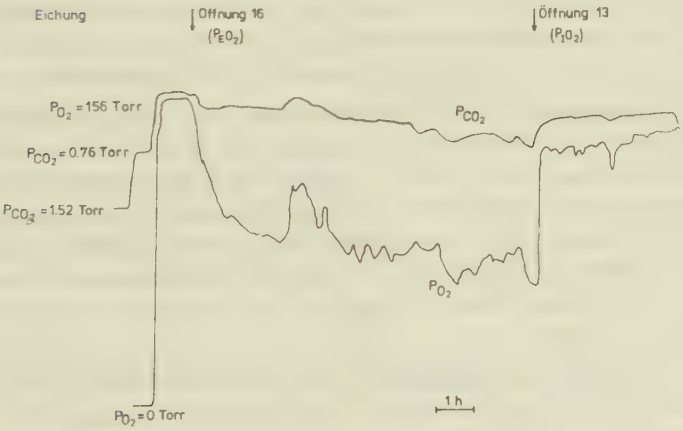

Abb. 7
Aufzeichnung des Po_2 und Pco_2 an zwei Öffnungen desselben Baues von Lumpenus

weiche Schlicksediment blockiert wurde, ging die charakteristische Auf- und Abbewegung vor allem des Sauerstoffpartialdrucks verloren. Der Po_2 fiel auf einen sehr niedrigen, recht konstanten Wert ab. Derartige Verstopfungen konnten damit leicht erkannt und behoben werden.

Der mittlere Pco_2 lag bei 0,5 - 0,6 Torr, mit extremen Werten von 0,26 und 0,89 bzw. in einem Fall sogar von 1,3 Torr (Abb. 6). Die Schwankungen im Pco_2 mit Werten von 0,2 - 0,3 Torr waren wesentlich geringer als die des Po_2, der um 50 - 60 Torr variieren konnte. Der niedrigste gemessene Wert für den Po_2 lag bei 57.1 Torr, Maximalwerte waren im normoxen Bereich bei 140 - 150 Torr. Die Fluktuationen im Po_2 waren besonders ausgeprägt, wenn der Partialdruck niedrig war. An den Öffnungen mit hohem Po_2 war er häufig in etwa konstant.

In mehreren Fällen wurde an zwei verschiedenen Öffnungen desselben Baues gemessen. Die Zugehörigkeit der Öffnungen zu einem Bau wurde zunächst getestet, indem mit einem Blasebalg Wasser in eine Öffnung hereingeblasen wurde, was die Fische nicht beunruhigte. Die Wasserströmung führte zum Aufstieg von Sedimentwolken aus der gegenüberliegenden Öffnung. Gelegentlich stiegen auch aus bis zu drei Öffnungen gleichzeitig Sedimentwolken auf. Die endgültige Zuordnung konnte erst durch die Harzausgüsse festgestellt werden, dies allerdings auch nur mit den in III.1.1.2. gemachten Einschränkungen.

Abb. 7 zeigt eine derartige Aufzeichnung. Besonders beim Po_2 ergaben sich deutliche Unterschiede zwischen den beiden Öffnungen eines Baues, wobei wiederum die Schwankungen des Partialdrucks an der Öffnung mit dem höheren Po_2 wesentlich geringer waren als an der anderen. Es konnten ausgehend von den mittleren Po_2-Werten an den einzelnen Öffnungen Δ-Werte berechnet werden. Hierbei ergaben sich ΔPo_2-Werte von 16,7 - 50,5 Torr (Tabelle 1).

Diese Unterschiede lassen auf einen gerichteten Wasserstrom schließen. So wurde die aufgrund der Sauerstoffpartialdruckunterschiede vermutete Strömungsrichtung des Wassers (Tabelle 1) durch Einsatz eines Strömungsmeßgerätes überprüft und

Tabelle 1
Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus

Öffn.	Vermutete Strömungs-richtung	Meßzeit (h)	Sauerstoffpartialdruck Max. (Torr)	Min. (Torr)	Mittel (Torr)	CO_2-Partialdruck Max. (Torr)	Min. (Torr)	ΔPo_2 (Torr)
16	Aus	9	112,2	57,1	78,2	0,79	0,51	
13	Ein	7,5	135,1	100,8	128,7	0,57	0,57	50,5
21	Aus	4,6	115,6	74,5	100,4	0,89	0,61	
6	Ein	3	140,5	113,7	130,9	0,58	0,53	30,5
4	Aus	7	121,2	108,6	114,3	0,45	0,43	
1	Ein	3	135,4	128,3	131,0	0,42	0,40	16,7
3	Ein	7	136,5	123,8	133,1	0,56	0,51	
15	Aus	9	123,8	105,6	108,6	0,56	0,51	24,5
16	Ein	4	145,7	149,3	147,5	0,27	0,25	
13	Aus	5,5	129,3	81,9	112,6	0,32	0,26	34,9

verifiziert (vgl. hierzu III.1.1.4.).

Vergleichsmessungen an einem verlassenen Bau waren möglich. Videoaufnahmen hatten gezeigt, daß ein Fisch seinen Bau verlassen hatte und nicht zurückgekehrt war. Die Po_2- und Pco_2-Messungen ergaben zwischen zwei Öffnungen einen konstanten Po_2 von 130 Torr und ein Pco_2 von 0,59 Torr. Beide Werte waren über 6,5 Stunden konstant, die charakteristischen Auf- und Abbewegungen des Po_2 waren nicht zu erkennen.

1.1.4. Ventilation des Baues

Die Strömung des Wassers im Bau wurde mit Hilfe eines Thermistors analysiert. Einer der beiden Thermistoren wurde direkt über eine Öffnung eines Baues gebracht und durch einen Trichter von äußeren Wasserströmungen abgeschirmt. In Abb. 8 ist eine Registrierung der Wasserströmung dargestellt. Etwa alle 1 bis 2 Minuten traten deutliche Strömungsmaxima auf.

Die Richtung dieser Strömung war jedoch mit diesem Aufbau nicht festzustellen. Daher wurde in den weiteren Versuchen diese verhältnismäßig einfache Thermistortechnik nicht weiter verfolgt. Stattdessen wurde ein magnetisches Strömungsmeßgerät eingesetzt. Die Registrierungen ergaben ein den Thermistoraufzeichnungen sehr ähnliches Bild. Alle ein bis zwei Minuten erschien eine deutliche Strömungswelle, deren Richtung sich feststellen ließ. Bei Messungen an zwei Öffnungen desselben Baues wurde an der einen Öffnung ein Wassereinstrom registriert, an der anderen ein Wasserausstrom (Abb. 9).

Ob nun das Wasser vom Kopf zum Schwanz des Tieres oder umgekehrt floß, mußte durch Beobachtung geklärt werden. Gelegentlich konnte in einer Öffnung der Kopf oder der Schwanz eines Fisches entdeckt werden. Direkt im Anschluß an eine solche Beobachtung vorgenommene Flußmessungen an dieser Öffnung zeigten immer einen Wassereinstrom, wenn der Kopf des Tieres und einen Wasserausstrom, wenn das Schwanzende des Fisches in der Öffnung gesichtet worden war.

Tabelle 2 gibt eine Zusammenfassung der Auswertungen dieser

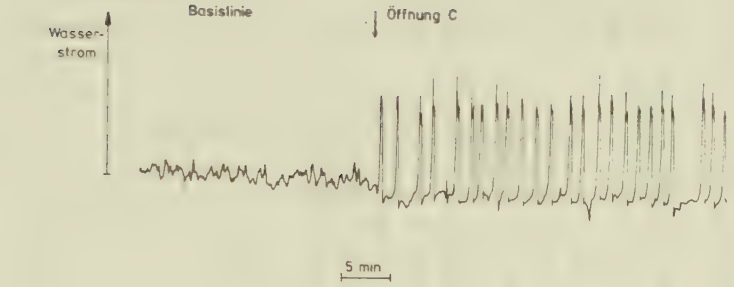

Abb. 8
Wasserströmung im Bau von Lumpenus, aufgezeichnet mit einem Thermistor

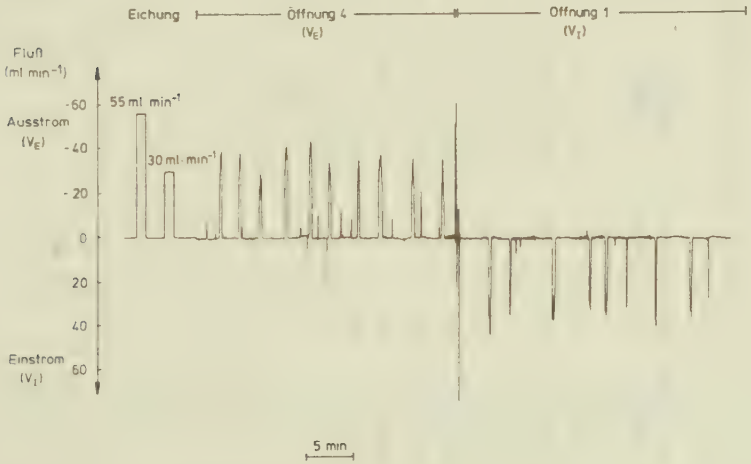

Abb. 9
Wasserströmung in einem Bau von Lumpenus, aufgezeichnet mit Hilfe eines elektromagnetischen Strömungsmeßgerätes

Tabelle 2
Ventilationsaktivität im Bau; die mittlere und die maximale Flußrate (M.-Fluß u. Max. Fluß) wurden aus der Peakhöhe berechnet und geben daher nur Anhaltspunkte über die Fließgeschwindigkeit des Ventilationsstromes

Öffn.	Strömungs-richtung	Meßzeit (min)	Peak Anzahl	Peakhöhe (mm) x ± SD	M.-Fluß (ml $\cdot min^{-1}$	Max. Fluß (ml $\cdot min^{-1}$	Peakbreite (mm) x ± SD	V.-Dauer (Sek.)	Σ P-breite (mm)	V.-Anteil ($min \cdot h^{-1}$)
3	Ein	40	29	40,3 ± 18,1	35,4	89,4	1,78 ± 0,75	21,4	51,5	15,45
1	Ein	30	29	22,6 ± 6,9	19,8	41,2	1,64 ± 0,63	19,7	47,5	19,0
1	Ein	30	26	31,2 ± 13,5	27,3	78,0	1,60 ± 0,58	19,2	41,5	16,6
4	Aus	24	24	25,5 ± 9,2	22,4	44,7	2,00 ± 0,91	24,0	48,0	24,0
13	Aus	60	17	59,9 ± 14,4	29,8	38,6	1,62 ± 0,33	19,4	27,5	5,5
15	Aus	30	19	32,0 ± 16,5	28,0	46,5	1,29 ± 0,35	15,5	24,5	9,8
15	Aus	60	38	36,3 ± 18,9	31,9	85,0	1,58 ± 0,50	18,9	60,0	12,0
3	Ein	60	24	40,9 ± 4,6	35,9	40,3	2,00 ± 0,59	24,0	48,0	9,6
3	Ein	60	23	34,0 ± 5,7	29,8	38,6	1,93 ± 0,80	23,2	44,5	8,9

Aufzeichnungen wieder. Im Verlauf einer Stunde war durchschnittlich während 13,4 Minuten eine Wasserströmung zu registrieren, was einem Anteil von 22,4% entspricht. Die Dauer der einzelnen Strömungsphasen betrug im Mittel 20,6 Sekunden. Die höchst mögliche Flußrate, die während einer solchen Strömungsphase erreicht wurde, würde auf eine Minute umgerechnet einem Fluß von annähernd 90 $ml \cdot min^{-1}$ entsprechen (Max. Fluß, Tab. 2).

Die Integration der Fläche unter dem Strömungsmaximum und damit die Quantifizierung der tatsächlichen Flußrate erfolgte aufgrund der größeren Genauigkeit an Schreiberaufzeichnungen mit einem Vortrieb von 60 mm pro Minute (Abb. 10). Bei diesen Aufzeichnungen wurde deutlich, daß es sich nicht um einen einheitlichen Peak handelte, sondern daß in jedem Peak noch mehrere Maxima und Minima zu erkennen waren. Tabelle 3 gibt die Auswertung dieser Aufzeichnungen wieder. An den verschiedenen Bauöffnungen wurden Flußraten von 1,1 bis zu 3,6 ml pro Minute bestimmt, wobei jeder Ventilationspeak im Durchschnitt einer Wassermenge von 3,0 ml entsprach.

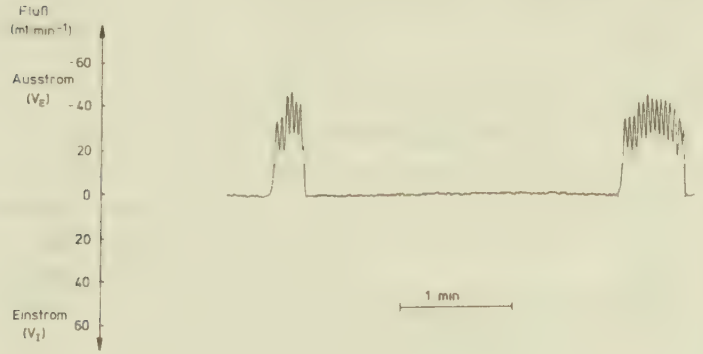

Abb. 10
Wasserströmung in einem Bau von Lumpenus, aufgezeichnet mit Hilfe eines elektromagnetischen Strömungsmeßgerätes, Zeitachse 12-fach expandiert im Vergleich zu Abb. 9

Eine Erklärung für die mehrfachen Maxima und Minima in jedem Ventilationspeak ergab sich aus Flußmessungen und aus Beob-

Tabelle 3

Bestimmung der Flußrate

Öffn.	Strömungs-richtung	Anzahl Peaks	Meßzeit (min)	mittlere Fläche (cm^2; x ± SD)	ΣFläche (cm^2)	Fluß ($ml \cdot min^{-1}$)	Fluß pro Peak (ml)
16	Aus	8	16,83	5,14 ± 3,29	41,10	3,57	7,51
16	Aus	25	85,83	5,58 ± 4,53	139,50	2,37	8,15
15	Aus	34	18,50	0,93 ± 0,93	31,77	2,51	1,37
1	Ein	16	11,33	0,81 ± 0,46	12,96	1,14	1,18
1	Ein	36	25,00	0,84 ± 0,35	30,30	1,77	1,23
1	Ein	31	23,83	0,89 ± 0,34	27,63	1,69	1,30
4	Aus	45	26,67	1,66 ± 0,89	74,52	4,08	2,42
4	Aus	27	16,33	1,31 ± 1,29	35,23	3,15	1,91
16	Ein	16	18,33	2,25 ± 2,16	36,32	2,89	3,32
4	Aus	45	31,83	1,74 ± 1,70	78,23	3,59	2,54

achtungen der Fische mit der Videokamera in einem künstlichen Bau, der aus einem durchsichtigen Polyäthylenschlauch mit einem Durchmesser von 2,5 cm bestand. In 1 - 2 -minütigem Abstand vollführte der Fisch schlängelnde Bewegungen, lediglich der vordere Teil des Tieres bis kurz hinter den Brustflossen war hiervon nicht betroffen, es fand keine Ortsbewegung statt. Diese Aktivität führte jedesmal zur Registrierung eines Wasserstroms, wobei wiederum am Kopfende ein Einstrom und am Schwanzende ein Ausstrom zu messen war. Die Form der Strömungspeaks entsprach exakt den Aufzeichnungen, die im künstlichen Biotop gewonnen worden waren, und die mehrfachen Maxima und Minima erklärten sich aus den einzelnen Schlängel- oder Schlagbewegungen des Schwanzes.

Bei diesen Messungen konnte insgesamt 3 mal während einer Aufzeichnung ein Wechsel der Strömungsrichtung in einer Öffnung registriert werden. Eine direkte Beobachtung des Geschehens im Bau war leider nicht möglich. Bei den Versuchen mit dem künstlichen Bau wurde jedoch festgestellt, daß die Fische in der Lage waren, sich in der Röhre umzudrehen. Die Vermutung liegt nahe, daß ein derartiges Umdrehen im Bau auch die Ursache für den Wechsel der Strömungsrichtung war.

1.2. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Lumpenus

1.2.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes

Die Bestimmung hämatologischer Daten erfolgte bei dreizehn Einzeltieren, die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle 4
Hämatologische Daten von Lumpenus lampretaeformis

	Einheit	x ± SD	n
Hämatokrit	%	21,3 ± 4,9	13
Hb (monomer)	$mmol \cdot l^{-1}$	2,44 ± 0,56	13
ATP	$mmol \cdot l^{-1}$	1,12 ± 0,32	13
GTP	$mmol \cdot l^{-1}$	nicht nachweisbar	
$ATP \cdot l^{-1}$ Erythrozyt	$mmol \cdot l^{-1}$ Ery.	5,64 ± 2,32	13
ATP/Hb_4	-	1,90 ± 0,59	13

Der Hämatokrit betrug im Mittel 21,3%, die Hämoglobinkonzentration lag bei 2,4 $mmol \cdot l^{-1}$. GTP war in diesen Proben nicht nachzuweisen, aber die ATP-Konzentration war mit 1,1 $mmol \cdot l^{-1}$ im Vergleich zur tetrameren Hämoglobinkonzentration recht hoch, so daß sich ein ATP/Hämoglobinverhältnis von 1:1,9 ergab.

Da die Erstellung von Sauerstoffbindungskurven nach Tucker (1967) größerer Blutvolumina bedarf, mußte das Blut mehrerer Tiere vereinigt werden. In Abb. 11 sind 4 Sauerstoffbindungskurven sowie das entsprechende Hill-Diagramm dargestellt. Es zeigte sich eine deutliche Erniedrigung der Sauerstoffaffinität bei zunehmender Ansäuerung (steigender Pco_2) des Blutes. Während die Halbsättigung (P_{50}) des Hämoglobins bei pH 8,18 schon bei einem Po_2 von 7,25 Torr erreicht war, betrug der P_{50} bei pH 7,01 bereits 34,8 Torr. Der Bohr-Koeffizient lag dementsprechend bei $\varphi = -0,60$. Tabelle 5 zeigt eine Übersicht über die Ergebnisse weiterer Sauerstoffbindungskurven, die sich daraus ergebende Bohr-Graphik ist in Abb. 12 wiedergegeben.

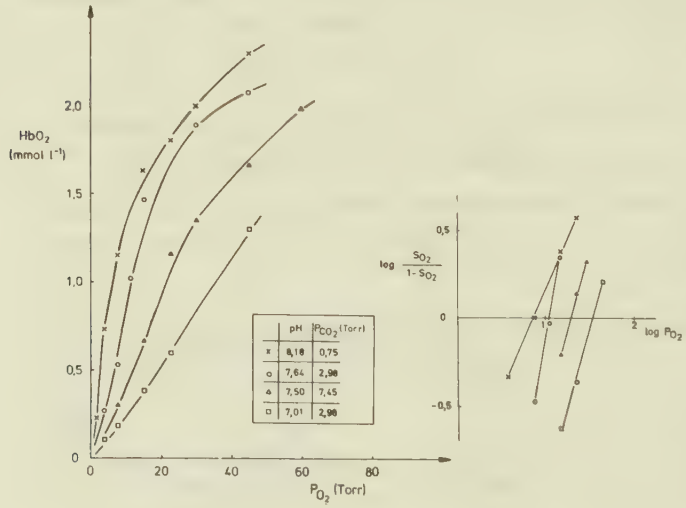

Abb. 11
Sauerstoffbindungskurven des Blutes von Lumpenus bei verschiedenen pH-Werten. Vor dem Erstellen der Kurve mit dem niedrigsten pH-Wert wurde das Blut gemäß II.1.3.3. angesäuert.

Tabelle 5
Sauerstoffbindungskurven des Blutes von Lumpenus

Pco_2 (Torr)	pH	log P_{50}	P_{50} (Torr)	n_{50}	ATP (mmol $\cdot l^{-1}$)	Hb_4 (mmol $\cdot l^{-1}$)	Hct (%)
0,76	8,024	1,176	15,08	1,71	0,84	0,50	18
3,02	7,709	1,405	25,42	1,99	0,84	0,50	18
1,50	7,881	1,310	20,40	1,79	0,71	0,61	19
4,50	7,592	1,485	30,58	1,34	0,71	0,61	19
3,75	7,648	1,451	28,28	1,20	0,71	0,61	19
5,98	7,444	1,596	39,69	1,37	0,93	0,46	16
0,73	7,812	1,318	20,81	1,47	0,62	0,59	18

Für einen pH-Wert von 7,8 - dieser Wert entspricht dem normalen pH-Wert des Blutes der Fische - ergab sich für die Halbsättigung des Hämoglobins ein Po_2 von etwa 20 Torr. Die Kooperativität war mit einem Hill-Koeffizienten (n) von 1,55 nicht besonders ausgeprägt. Die Sigmoidität der Sauerstoffbindungskurven war dementsprechend nicht sehr deutlich (vgl. Abb. 11). Eine Abhängigkeit des Hill-Koeffizienten vom pH-Wert war in dem pH-Bereich von pH 7,4 bis pH 8,1 nicht zu erkennen. Der Bohr-Koeffizient für diese Sauerstoffbindungskurven betrug $\varphi = -0,70$ (Abb. 12).

Während der Bohr-Effekt eine Erniedrigung der Sauerstoffaffinität bei abnehmendem pH-Wert beschreibt, spiegelt der Root-Effekt eine pH-abhängige Verminderung der Sauerstoffkapazität wieder. Mit zunehmender Protonenkonzentration kann das respiratorische Pigment nicht mehr vollständig mit Sauerstoff beladen werden.

Die Ausprägung des Root-Effektes bei Lumpenus wurde in drei Versuchsserien bestimmt. In zwei Experimenten wurde der pH-Wert durch die Erhöhung des Pco_2 verändert. In einem weiteren Versuch wurden verschiedene Teile einer vereinigten Blutmenge mehrerer Tiere zunächst durch Zugabe von "fester Säure" angesäuert, erst dann erfolgte eine weitere pH-Veränderung durch den Pco_2.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Abbildung 13 zusam-

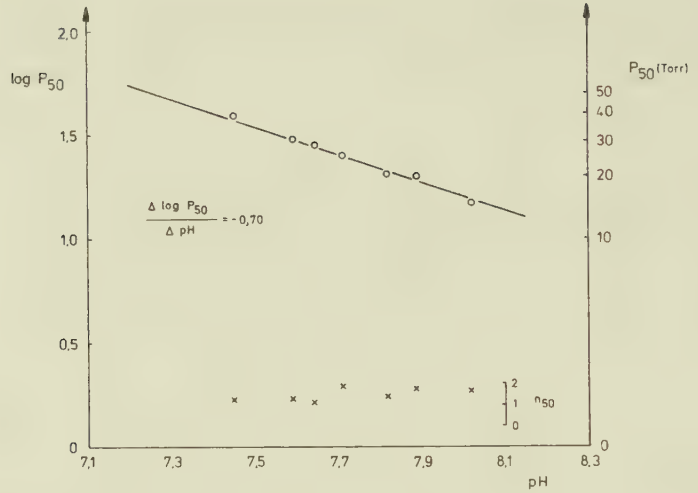

Abb. 12
Darstellung der Abhängigkeit der Sauerstoffaffinität vom pH-Wert

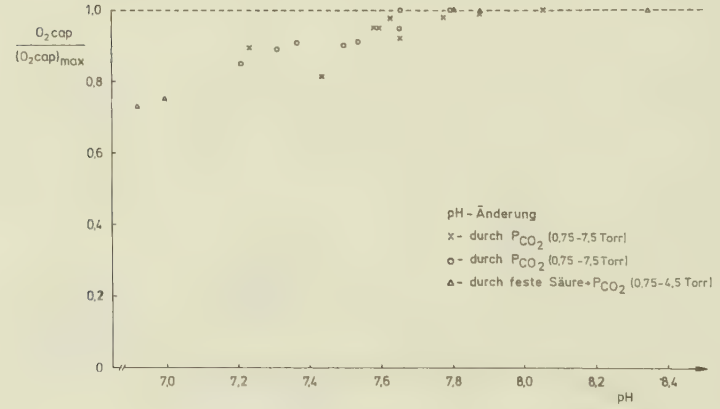

Abb. 13
Die Ausprägung des Root-Effektes bei Lumpenus. Die Erniedrigung des pH-Wertes erfolgte durch eine feste Säure und bzw. oder durch den P_{CO_2} (T = 15oC)

mengefaßt. Unterhalb von pH 7,6 war eine Minderung der Sauerstoffkapazität zu erkennen. Bei fortschreitender Ansäuerung nahm die Kapazität weiter ab, und bei einem pH-Wert von 7,0 war sie schließlich um 20% zurückgegangen. Das Ausmaß des Root-Effektes wurde aber nicht durch die Art der zugegebenen Säure beeinflußt. Die Ergebnisse des Versuches drei, bei dem eine feste Säure eingesetzt wurde, zeigen in Abhängigkeit vom pH-Wert die gleiche Minderung der Sauerstoffkapazität wie die der ersten beiden Versuche, bei denen lediglich CO_2 für die Verschiebung des pH-Wertes eingesetzt wurde. CO_2 bewirkt also im Vergleich mit einer festen Säure keinen stärkeren Rückgang der Sauerstoffkapazität des Hämoglobins.

1.2.2. Pufferkapazität des Blutes und des Muskelgewebes

Die Pufferkapazität des Blutes und des Muskelgewebes von Lumpenus wurde durch Bestimmung der CO_2-Bindungsfähigkeit dieser Kompartimente bei der Titration mit CO_2 analysiert. Bei der Bestimmung des totalen CO_2 Gehaltes (Cco_2) in Abhängigkeit vom Pco_2 ergab sich eine hyperbolisch verlaufende Kurve, wobei das desoxygenierte Blut eine etwas höhere Kapazität für CO_2 aufwies (Abb. 14). Bei einem Pco_2 von 2,5 Torr (dieser Wert entspricht dem venösen Pco_2 von Blennius pholis unter Kontrollbedingungen, vgl. III.2.3.2.) betrug der Cco_2-Gehalt im oxygenierten Blut 3 $mmol \cdot l^{-1}$, im deoxygenierten dagegen 3,7 $mmol \cdot l^{-1}$.

Aus dieser Differenz ließ sich der Haldane-Koeffizient, der definiert ist als

$$\text{Hald.-K.} = \frac{\Delta Cco_2}{HbO_2}$$

berechnen. Er betrug 0,22 mmol $CO_2 \cdot mmol^{-1}$ Hb (Tabelle 6). Dies bedeutet, daß pro mmol Hämoglobin 0,22 mmol CO_2 mehr gebunden werden können, wenn das Blut in den desoxygenierten Zustand übergeht.

Aus der Cco_2 Konzentration wurde durch Subtraktion des gelösten Anteils an CO_2 ($\alpha CO_2 \cdot Pco_2$) die Bikarbonatkonzentration berechnet und dann im pH-Bikarbonat-Diagramm gegen den pH aufgetragen. Der Anstieg der resultierenden Geraden ent-

spricht der Pufferkapazität des Nicht-Bikarbonat-Puffersystems. Die Pufferkapazität des oxygenierten und des desoxygenierten Blutes waren mit 5,02 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ bzw. 4,89 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ nicht signifikant verschieden ($p>0,5$; Tabelle 6).

Tabelle 6
Pufferkapazität im Blut von Lumpenus lampretaeformis

Proben Nr.	ß oxy (mmol $\cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$)	ß deoxy (mmol $\cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$)	Hb ($mmol \cdot l^{-1}$)	Haldane-Koeffizient
1	-5,750	-5,376	2,35	0,26
2	-4,051	-3,236	1,95	0,28
3	-4,405	-4,905	1,99	0,21
4	-4,706	-3,680	2,87	0,21
5	-6,195	-7,273	2,10	0,15
X	-5,021	-4,894		0,22
± SD	±0,91	±1,59		±0,05

Die CO_2-Titration des Muskelhomogenates von Lumpenus ergab ebenfalls eine hyperbolisch verlaufende Kurve, jedoch war die CO_2-Kapazität dieses Kompartiments wesentlich niedriger als die des Blutes. So war die Cco_2-Konzentration bei einem Pco_2 von 2,5 Torr lediglich 1,3 $mmol \cdot l^{-1}$ (Abb. 15). Auch hier ließ sich wieder unter Berücksichtigung der physikalisch gelösten Fraktion des CO_2 die Bikarbonatkonzentration des Homogenates und dann des Homogenatwassers berechnen und gegen den pH auftragen. Aus der Pufferkapazität des Homogenatwassers wurde schließlich die Pufferkapazität des Gewebewassers berechnet, die in diesem Fall -37,3 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ betrug (Abb. 16). Die Ergebnisse aus den Bestimmungen mit drei Gewebehomogenaten sind in Tabelle 7 aufgelistet. In Abbildung 17 sind die Ergebnisse dieser CO_2-Titrationen von Blut und Gewebe zusammenfassend dargestellt. Diese Abbildung verdeutlicht noch einmal die hohe Pufferkapazität des Muskelgewebes im Vergleich zur niedrigen Pufferkapazität des Blutes.

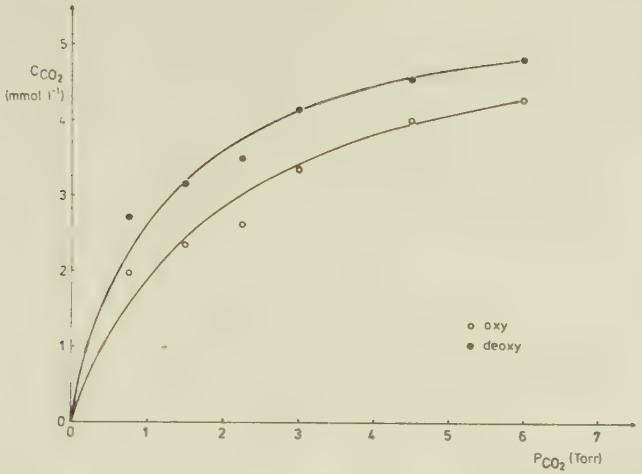

Abb. 14
CO_2-Bindungskurven des oxygenierten (Po_2 = 370 Torr) und des desoxygenierten (Po_2 = 0 Torr) Blutes von Lumpenus (T = 15°C)

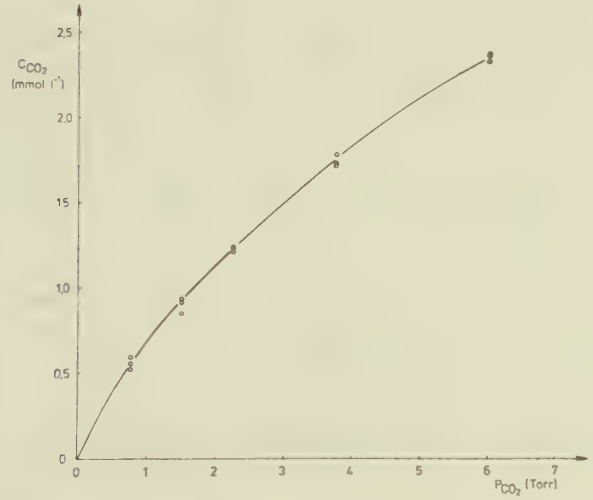

Abb. 15
CO_2-Bindungskurven eines Muskelhomogenates von Lumpenus (Po_2 = 370 Torr; T = 15°C)

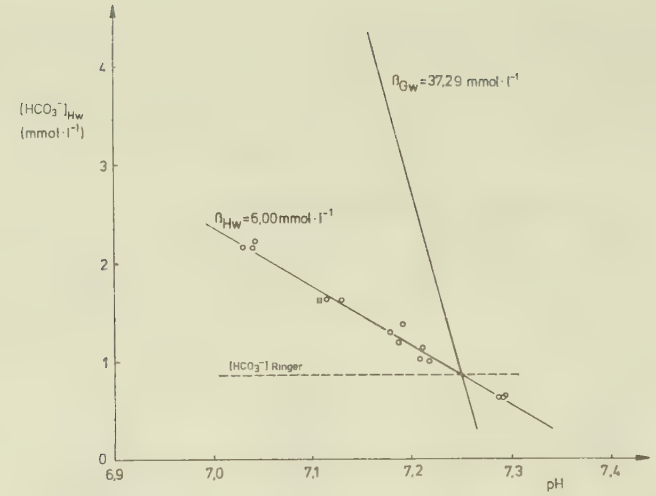

Abb. 16
Darstellung der Puffergeraden des Homogenatwassers (H_W) im pH-Bikarbonat-Diagramm. Die Puffergeraden des Gewebewassers wurden aus dem Pufferwert des Hw und den Anteilen an Ringerlösung und Gewebe berechnet

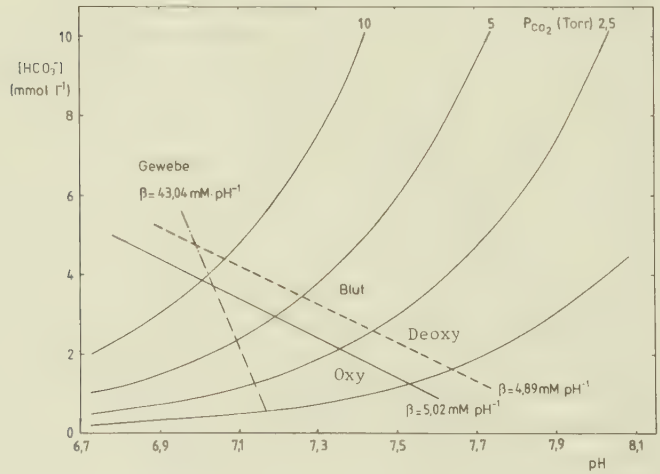

Abb. 17
Zusammenfassende Darstellung der Puffergeraden von Blut und Gewebe im pH-Bikarbonat-Diagramm

Tabelle 7
Pufferkapazität des Muskelgewebes

	β_{Hw} ($mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$)	β_{Gw} ($mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$)	pk' (x ± SD)
1	-6,00	-37,3	6,19 ± 0,06
2	-7,30	-45,4	6,17 ± 0,03
3	-7,48	-46,5	6,20 ± 0,04
x	-6,93	-43,1	
± SD	±0,81	± 5,0	

1.2.3. Bestimmung des RQ unter Normoxie und des Sauerstoffverbrauchs in Abhängigkeit vom Po_2

Der Ruhesauerstoffverbrauch wurde polarographisch bei 8 Fischen mit einem Gewicht von 4,7 g bis zu 14,3 g bestimmt. Diese Messungen erstreckten sich bei jedem Fisch über etwa 24 Stunden. Die Fische hatten unmittelbar nach dem Einsetzen in das Respirometer einen hohen Sauerstoffverbrauch. In den ersten Stunden fiel der Sauerstoffverbrauch ab und erreichte dann nach einigen Stunden recht konstante Werte. Bei der Auswertung der Schreiberaufzeichnungen wurden daher die ersten 2 bis 3 Meßzyklen unberücksichtigt gelassen. Bei der Versuchstemperatur von 15 ± 1 °C ergab sich ein Sauerstoffverbrauch von 2,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ (Tabelle 8).

Tabelle 8
Ruhe $\dot{M}o_2$ von Lumpenus lampretaeformis in $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$

Tier	Gewicht (g)	$\dot{M}o_2$ (x ± SD)	Anzahl der Meßzyklen
1	5,6	2,38 ± 0,19	6
2	4,7	2,85 ± 0,28	4
3	10,2	3,26 ± 0,12	5
4	13,2	2,82 ± 0,38	12
5	9,5	2,46 ± 0,21	8
6	9,1	3,09 ± 0,27	8
7	14,3	2,08 ± 0,15	4
8	9,5	2,33 ± 0,18	5
x ± SD		2,66 ± 0,41	

Bei vier weiteren Fischen wurde sowohl der Sauerstoffver-

brauch als auch die CO_2-Ausscheidung analysiert, um den respiratorischen Quotienten (RQ) zu ermitteln. Die Bestimmung der CO_2-Ausscheidung erfolgte über die Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes (Cco_2) in Wasserproben aus dem Respirometer. Der Sauerstoffverbrauch dieser vier Tiere war mit 2,83 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ geringfügig höher als der mittlere Ruhesauerstoffverbrauch von 2,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, die CO_2-Ausscheidung betrug im Mittel 2,33 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$. Daraus ließ sich ein respiratorischer Quotient von 0,82 berechnen (Tabelle 9).

Tabelle 9
Respiratorischer Quotient von Lumpenus

Tier	Gewicht (g)	$\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	$\dot{M}co_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	RQ
1	10,4	2,37	1,79	0,76
		2,40	1,67	0,70
		3,94	3,44	0,87
2	9,9	2,95	2,58	0,87
		2,01	1,76	0,88
3	7,1	2,30	2,05	0,89
4	5,5	3,87	3,06	0,79
x ± SD		2,83 ± 0,78	2,33 ± 0,70	0,82 ± 0,07

Ein interessanter Aspekt bei der Analyse des Sauerstoffverbrauchs ist seine Beeinflussung durch den Sauerstoffpartialdruck. Um dieses zu untersuchen, wurde bei 5 Tieren die Schaltautomatik der Respirometeranlage ausgestellt, so daß der Sauerstoffpartialdruck im Respirometer durch die Atmungsaktivität des Fisches fiel. Bei Erreichen eines Po_2-Wertes von 35-40 Torr wurde dann der Wasserkreislauf wieder geöffnet. Diese untere Grenze für den Po_2 ergab sich aus den Ergebnissen der Hypoxie-Inkubationen zur Analyse des Energiestoffwechsels (siehe III.1.3.2).

Der O_2-Verbrauch dieser Fische war bei fallendem Po_2 zunächst weitgehend konstant. Erst bei einem Partialdruck von unter 60 Torr war eine Verringerung des Sauerstoffverbrauchs zu erkennen. Bei 40 Torr Po_2 konnte noch ein Verbrauch von 2,07 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ ermittelt werden, was gegenüber

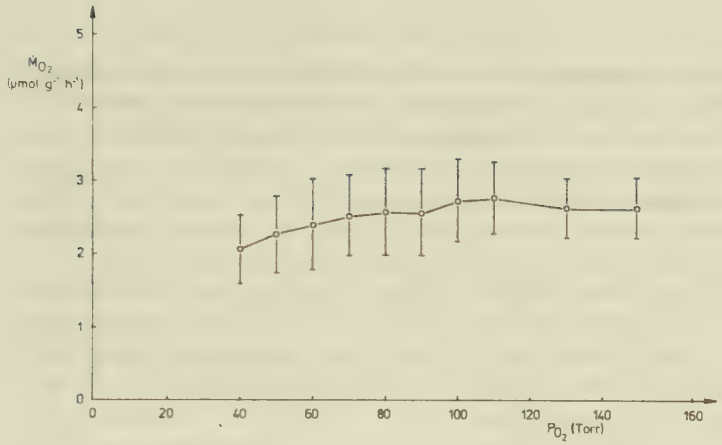

Abb. 18
Sauerstoffverbrauch von Lumpenus in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck (n = 5; $\bar{x} \pm SD$; T = 15°C)

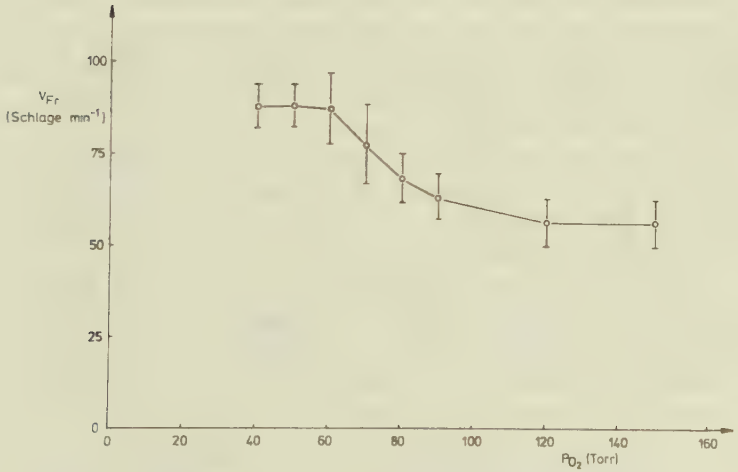

Abb. 19
Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) von Lumpenus in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck (n = 4; $\bar{x} \pm SD$)

dem Verbrauch bei Normoxie einer Verringerung um 22% entspricht (Abb 18).

1.2.4. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2

Neben dem Sauerstoffverbrauch wurde auch die Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) in Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck untersucht. Mit Hilfe der Impedanztechnik wurde für die Operkula in Normoxie (Po_2 = 150 Torr) eine Schlagfrequenz von 56,8 Schlägen pro Minute ermittelt. Bei fortschreitender Reduktion des Po_2 ergab sich ein Anstieg in der Schlagfrequenz bis zu durchschnittlich 88 Schlägen pro Minute bei einem Po_2 von 60 Torr. Eine weitere Verringerung des Sauerstoffpartialdruckes hatte jedoch keinen weiteren Anstieg der Atemfrequenz mehr zur Folge (Abb. 19). Eine Frequenz von 100 Schlägen pro Minute oder mehr wurde bei keinem Fisch registriert.

1.3. Energiestoffwechsel von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2

Die bisher behandelten Punkte der Atmungsphysiologie müssen in engem Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel der Gewebe gesehen werden. So wird der von den respiratorischen Pigmenten transportierte Sauerstoff im Energiestoffwechsel der Gewebezellen reduziert, und das in diesem Stoffwechsel anfallende Kohlendioxid wird vom Blut zu den respiratorischen Organen transportiert und dort ausgeschieden. Auch am Beispiel von im Zellstoffwechsel anfallenden Protonen läßt sich das enge Zusammenspiel zwischen dem zellulären Energiestoffwechsel und dem Blut aufzeigen. So werden von Fischen bei hohen anaeroben Stoffwechselraten, also in Situationen, in denen sehr viele Protonen freigesetzt werden, diese Ionen ins Blut transportiert und schließlich zumindest vorübergehend ins umgebende Wasser abgegeben (Heisler, 1984). Zudem beeinflussen Protonen im Blut ihrerseits die Affinität des respiratorischen Proteins zum Sauerstoff (Bohr-Effekt).

Für die Analyse des Energiestoffwechsels wurden die Aktivitäten wichtiger Enzyme des Energiestoffwechsels bestimmt. Außerdem sollten im Anschluß an Inkubationen unter hypoxen

Bedingungen verschiedene Metabolite des Stoffwechsels bestimmt werden.

1.3.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten

Die Aktivitäten wichtiger Enzyme des Stoffwechsels wurden bei 25°C in Rohhomogenaten bestimmt. Die Ergebnisse der Analysen sind in Tabelle 10 dargestellt.

Tabelle 10
Enzymaktivitäten im Rohhomogenat des Muskelgewebes von Lumpenus in $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg, (n = 5)

Phosphorylase	12,5 ± 1,9
Hexokinase	0,14 ± 0,14
Phosphofructokinase	14,3 ± 2,4
Glycerinaldehydphosphatdehydrog.	301,9 ± 56,5
Pyruvatkinase	270,8 ± 123,7
Laktatdehydrogenase	688,6 ± 161,5
Citratsynthase	2,7 ± 0,6
Malatdehydrogenase	111,1 ± 26,6
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	20,2 ± 5,7
Glutamat-Pyruvat-Transaminase	5,0 ± 1,2
Creatinkinase	2262 ± 536

Hier zeigte sich, daß die Enzyme des Embden-Meyerhof-Parnas-Weges sehr hohe Aktivitäten aufwiesen, nämlich die Phosphofructokinase mit 14,3 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg, die Glycerinaldehydphosphatdehydrogenase mit 301,9 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg, die Pyruvatkinase mit 270 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg sowie vor allem die Laktatdehydrogenase mit 688,6 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg. Die Aktivität der Hexokinase war mit 0,14 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg gering im Gegensatz zur Aktivität der Phosphorylase mit 12,5 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg, nachdem das Enzym durch AMP-Zugabe aktiviert wurde. Die Aktivität der Phosphorylase a war kaum meßbar. Die Creatinkinase zeigte mit einer 2262 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg die höchste Aktivität.

Die Citratsynthase ist ein Leitenzym des Citratzyklus und somit ein Enzym des aeroben Stoffwechsels. Die Aktivität dieses Enzyms wurde mit 2,7 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg bestimmt. Von den Transaminasen war die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase mit

20,2 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg wesentlich aktiver als die Glutamat-Pyruvat-Transaminase mit 5,0 $U \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg.

1.3.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur

Versuchsgruppen zu je fünf Fischen wurden in einem Aquarienbecken bei Po_2-Werten von 150 Torr, 80 Torr, 65 Torr, 40 Torr und 22 Torr inkubiert. Anschließend wurden für die Bestimmung von Metaboliten des Energiestoffwechsels sowohl Muskel- als auch Blutproben entnommen. Die Inkubation bei 22 Torr wurde nach 4 h abgebrochen, da 4 der 5 Tiere tot waren.

In den Extrakten aus dem Muskelgewebe wurden zunächst einmal die Adenylate bestimmt und der Energieinhalt (EC; Atkinson, 1968) berechnet. Bei den Adenylatgehalten ergab sich in Abhängigkeit vom Po_2 keinerlei Veränderung (Tabelle 11), und der Energieinhalt blieb konstant mit Werten zwischen 0,91 und 0,94 (Abb. 20).

Das Phosphagen wurde jedoch bei einem Po_2 von 40 Torr deutlich abgebaut. Während bei einem Po_2 von über 65 Torr der Creatinphosphatgehalt über 20 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg lag, ergab sich nach einer Inkubation bei 40 Torr lediglich ein Gehalt von $13.25 \pm 2,8$ $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg (Abb. 20).

Unter normoxen Bedingungen betrug der Gehalt an Glucose-6-phosphat und Laktat $0,5 \pm 0,32$ $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg bzw. $1,14 \pm 0,32$ $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg. Änderungen im Gehalt dieser beiden Metabolite waren erst bei einem Po_2 von 40 Torr feststellbar. Bei diesem Sauerstoffpartialdruck stieg der Laktatgehalt auf $5,16 \pm 1,44$ $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg und der Gehalt an Glucose-6-phosphat auf $1,5 \pm 0,6$ $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg an (Abb. 21).

1.3.3. Metabolitbestimmungen im Blut

Auch im Blut der Fische wurden verschiedene Metabolite des Stoffwechsels bestimmt. Von großer Bedeutung sind organische Phosphate, die als Modulatoren der O_2-Affinität des Hämoglobins eine Rolle spielen, sowie das Laktat als Endprodukt des anaeroben Stoffwechsels und die Glucose als Blutzucker und somit als Energielieferant. Das organische Phosphat GTP war mit dem enzymatischen Test nicht nachweisbar.

Tabelle 11

Metabolitkonzentrationen in $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg sowie der Energieinhalt in der Muskulatur von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2, ($x \pm SD$; $n = 5$, außer $Po_2 = 80$ bzw. 150 Torr mit $n = 4$; $T = 15^{o}C$)

Po_2 (Torr)	ATP	ADP	AMP	EC	Adenylate
150	5,98 ± 0,52	0,78 ± 0,09	0,14 ± 0,01	0,93 ± 0,01	6,19 ± 0,44
80	6,28 ± 0,35	0,79 ± 0,06	0,09 ± 0,03	0,94 ± 0,01	7,17 ± 0,42
65	5,53 ± 0,94	0,73 ± 0,11	0,09 ± 0,02	0,93 ± 0,01	6,42 ± 0,84
40	5,12 ± 0,51	0,77 ± 0,09	0,14 ± 0,04	0,91 ± 0,01	6,02 ± 0,54

* = signifikant verschieden von den Kontrollen mit $p<0,05$

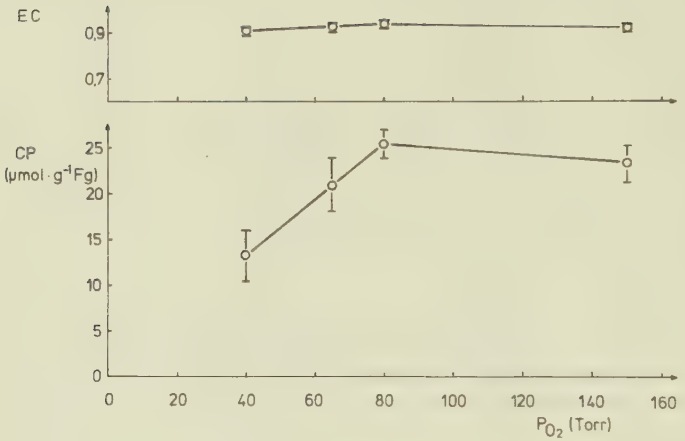

Abb. 20
Energieinhalt (EC) und Gehalt an Creatinphosphat im Muskelgewebe von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2;
Inkubationszeit 7 h; (n = 5; außer Po_2 = 80 bzw. 150 Torr mit n = 4; x ± SD; T = 15°C)

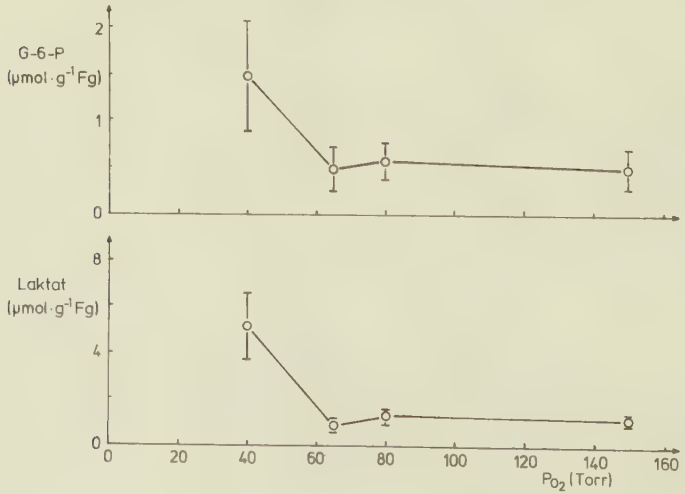

Abb. 21
Gehalt an Laktat und Glucose-6-phosphat im Muskelgewebe von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2;
Inkubationszeit 7 h; (n = 5, außer Po_2 = 80 bzw. 150 Torr mit n = 4; x ± SD; T = 15°C)

Bei der ATP-Konzentration - dem anderen wichtigen organischen Phosphat im Blut der Fische - waren in Abhängigkeit von den Inkubationen unter Hypoxie bis zu 40 Torr Po_2 keine Veränderungen feststellbar ($p>0,5$). Die ATP-Konzentration betrug bei allen Versuchsgruppen in etwa 1,1 µmol pro ml Blut (Abb. 22).

Die Laktatkonzentration und die Glucosekonzentration betrugen unter normoxen Kontrollbedingungen 0,07 $\pm$ 0,027 µmol $\cdot ml^{-1}$ Blut bzw. 1,10 $\pm$ 0,34 µmol$\cdot ml^{-1}$ Blut. Abbildung 23 zeigt, daß beide Metabolite nach einer 7-stündigen Inkubation bei 80 Torr Po_2 leicht erhöhte Konzentrationen aufwiesen. Unterhalb von 80 Torr erfolgte ein starker Anstieg in den Konzentrationen beider Substanzen, und bei 40 Torr wurden schließlich 0,54 $\pm$ 0,11 µmol Laktat pro ml Blut sowie 1,35 $\pm$ 0,36 µmol Glucose pro ml Blut erreicht.

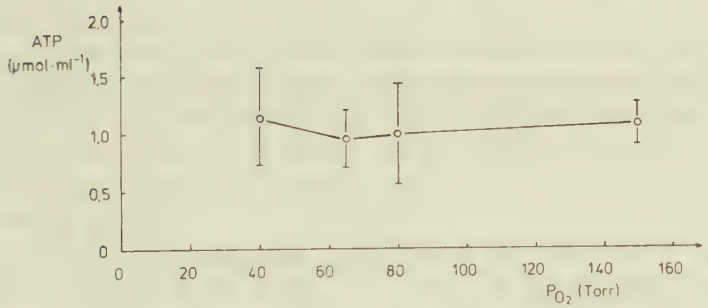

Abb. 22
ATP-Konzentration im Blut von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 7 h; (n = 4; außer Po_2 = 80 bzw. 65 Torr mit n = 5; T = 15°C))

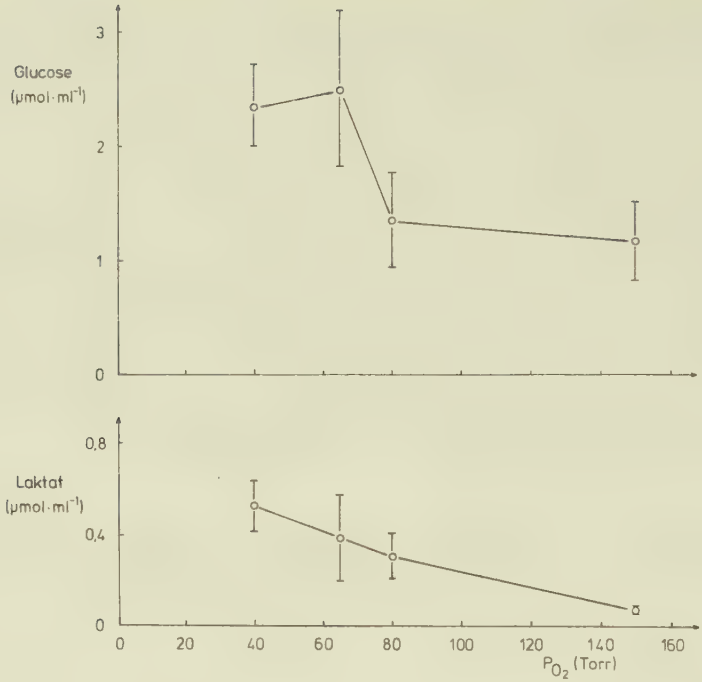

Abb. 23
Konzentrationen von Laktat und Glucose im Blut von Lumpenus in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 7 h; (n = 4; außer Po_2 = 80 bzw. 65 Torr mit n = 5; T = 15°C)

2. Untersuchungen an Blennius pholis

2.1. Untersuchungen zur Atmungsphysiologie von Blennius pholis

Zunächst wurde am Vollblut von Blennius pholis die Bindung des Sauerstoffs an das Hämoglobin analysiert, um somit Aussagen über die Sauerstoffaffinität, den Bohr-Effekt und die Kooperativität des Atempigmentes machen zu können. Die Ergebnisse sollten die Untersuchungen von Bridges et al. (1984) und von Bridges (in Vorbereitung) über die Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes und über die Puffereigenschaften von Blut und Muskelgewebe ergänzen.

Weitere Studien dienten der Bestimmung des Ruhe-Sauerstoffverbrauchs und des respiratorischen Quotienten. Zudem wurde die Beeinflussung des Sauerstoffverbrauchs und der Ventilationsfrequenz durch den Sauerstoffpartialdruck analysiert.

2.1.1. Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes

Die Sauerstoffbindungseigenschaften des Blutes wurden im Gegensatz zu Bridges et al. (1984) photometrisch mit Hilfe der Diffusionstechnik untersucht. Abbildung 24 zeigt drei Sauerstoffbindungskurven, die bei einer Temperatur von 12,5°C erstellt worden sind. Bei einem pH-Wert von 8,07 lag der P_{50} bei 6,4 Torr. Die Verschiebung des pH-Wertes erfolgte durch die Änderung des CO_2-Partialdruckes. Aus mehreren bei verschiedenen pH-Werten erstellten Sauerstoffbindungskurven wurde ein Bohr-Koeffizient von $\varphi = -0{,}53$ (Abb. 25) berechnet.

In weiteren Experimenten wurde der pH-Wert des Blutes nicht nur durch den Pco_2, sondern auch durch Zugabe von fester Säure bzw. Base verändert, um einen möglichen spezifischen CO_2-Einfluß auf die Sauerstoffbindungseigenschaften des Hämoglobins zu erfassen. Die Darstellung dieser Sauerstoffbindungskurven im Hill-Diagramm (Abb. 26) zeigt, daß die Kooperativität des Hämoglobins durch eine zunehmende Ansäuerung sowohl mit CO_2 als auch mit fester Säure geringer wurde. Während bei einem pH-Wert von 8,3 der Hill-Koeffizient 3,3 betrug, wurde beim pH-Wert von 6,9 nur noch ein

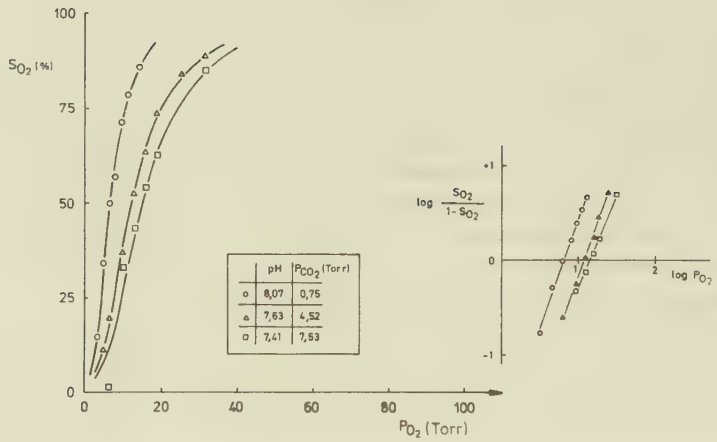

Abb. 24
Sauerstoffbindungskurven und Hill-Diagramm des Blutes von Blennius pholis bei unterschiedlichen pH-Werten (T = 12,5°C)

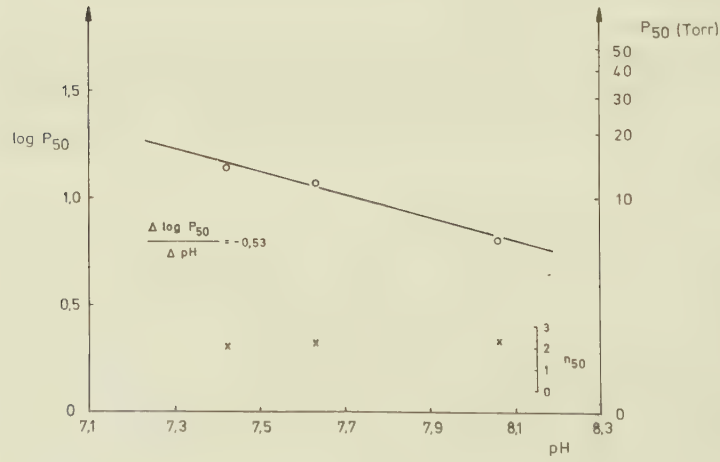

Abb. 25
Darstellung der pH-Abhängigkeit der Sauerstoffaffinität des Blutes

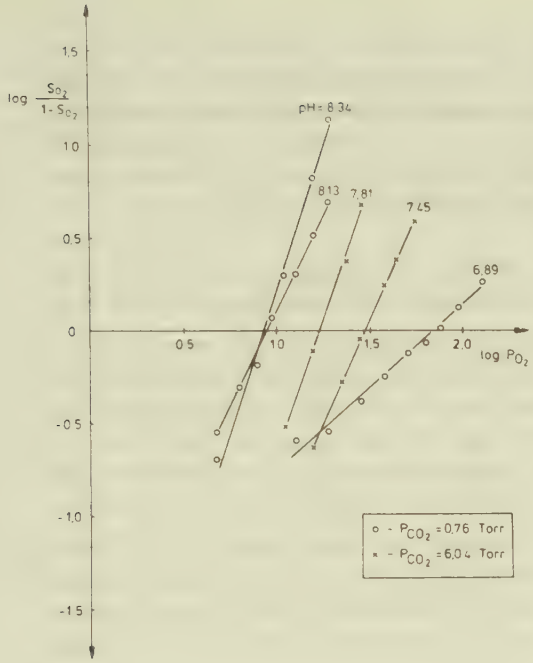

Abb. 26
Hill-Diagramm der Sauerstoffbindungskurven, die nach pH-Veränderung des Blutes mittels fester Säure und bzw. oder mittels Pco_2 erstellt wurden (T = 12,5°C)

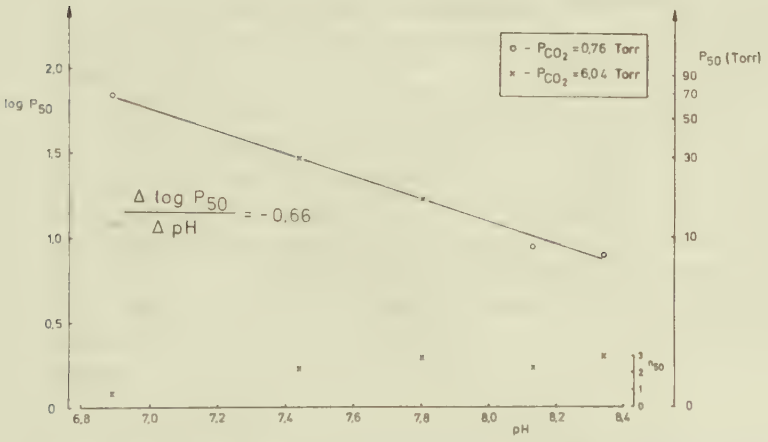

Abb. 27
Darstellung des Bohr-Effektes, der sich aus den in Abb. 26 abgebildeten Sauerstoffbindungskurven ergibt

Hill-Koeffizient von 0,95 erreicht. Die Auftragung des $\log P_{50}$ in Abhängigkeit vom pH-Wert macht deutlich, daß die Art der Ansäuerung die Sauerstoffaffinität nicht beeinflußt, da alle Werte auf einer Geraden liegen (r = 0,99; Abb. 27). Bei einem spezifischen Effekt des CO_2 auf die Sauerstoffaffinität hätten sich zwei Geraden ergeben müssen.

2.1.2. Die Bestimmung des RQ von Blennius pholis im Wasser und der Sauerstoffverbrauch in Abhängigkeit vom Po_2

Der Sauerstoffverbrauch von Blennius pholis unter Normoxie wurde bei 11 Tieren bestimmt. Während dieser Messungen, die sich jeweils über etwa 24 h erstreckten, war der Sauerstoffverbrauch erst nach einigen Stunden konstant (Abb. 28). Der zunächst relativ hohe Sauerstoffverbrauch war offensichtlich durch das Einsetzen der Tiere in das Respirometer bedingt.

Die Mittelwerte des Ruhesauerstoffverbrauchs der 11 Tiere sind in Tabelle 12 aufgelistet. Die Fische, die zwischen 13,1 und 34,5 Gramm wogen, hatten bei einer Temperatur von 12,5°C einen mittleren Sauerstoffverbrauch von 1,73 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$.

Tabelle 12
Sauerstoffverbrauch von Blennius pholis im Wasser
(T = 12,5°C)

Tier	Gewicht (g)	$\dot{M}o_2$ $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Anzahl der Meßzyklen
1	13,1	1,92 ± 0,11	9
2	31,3	1,93 ± 0,32	9
3	28,1	1,82 ± 0,18	17
4	26,9	1,68 ± 0,21	5
5	34,5	1,79 ± 0,13	11
6	24,1	2,17 ± 0,22	14
7	20,8	1,59 ± 0,14	7
8	19,5	1,81 ± 0,28	12
9	22,9	1,44 ± 0,14	13
10	31,3	1,54 ± 0,12	19
11	27,0	1,35 ± 0,15	19
x ± SD		1,73 ± 0,24	

Bei vier weiteren Tieren wurde neben dem Sauerstoffverbrauch auch die CO_2-Ausscheidung bestimmt, so daß der respiratorische Quotient berechnet werden konnte (Tabelle 13).

Tabelle 13
Respiratorischer Quotient von Blennius im Wasser (T = 12,5°C)

Tier	Gewicht (g)	$\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	$\dot{M}co_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	RQ	Mittelwert
		1,55	1,19	0,77	
1	49,9	1,52	1,17	0,77	0,835
		1,47	1,31	0,89	
		1,46	1,33	0,91	
		2,06	1,58	0,77	
2	27,9	1,85	1,58	0,85	0,75
		1,66	1,17	0,70	
		1,58	1,06	0,67	
		1,64	1,65	1,00	
3	48,0	1,28	1,31	1,02	0,96
		1,25	1,00	0,80	
		1,19	1,23	1,03	
4	45,9	1,56	1,33	0,85	0,885
		1,42	1,30	0,92	
x		1,54	1,30	0,86	0,86
± SD		±0,23	±0,19	±0,11	±0,09

Der mittlere Sauerstoffverbrauch dieser vier Tiere lag bei 1,54 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, die mittlere CO_2-Ausscheidung bei 1,30 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, woraus sich ein respiratorischer Quotient von 0,86 ± 0,09 ergab.

In weiteren Messungen wurde der Einfluß des Po_2 auf den Sauerstoffverbrauch analysiert. Mit fortschreitender Hypoxie fiel der Sauerstoffverbrauch bis zu einem Po_2 von etwa 40 Torr sehr langsam, aber kontinuierlich ab (Abb. 29). Unterhalb von 40 Torr wurde eine stärkere Abnahme registriert. Bei einem Po_2 von 20 Torr betrug der Sauerstoffverbrauch noch 1,07 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, d.h. der Sauerstoffverbrauch unter hypoxen Bedingungen war gegenüber Normoxie um 38% zurückgegangen.

2.1.3. Ventilation in Abhängigkeit vom Po_2

Die Frequenz der Operkularbewegungen von Blennius pholis betrug 63,3 ± 6,4 Schläge pro Minute bei einem Po_2 von 150

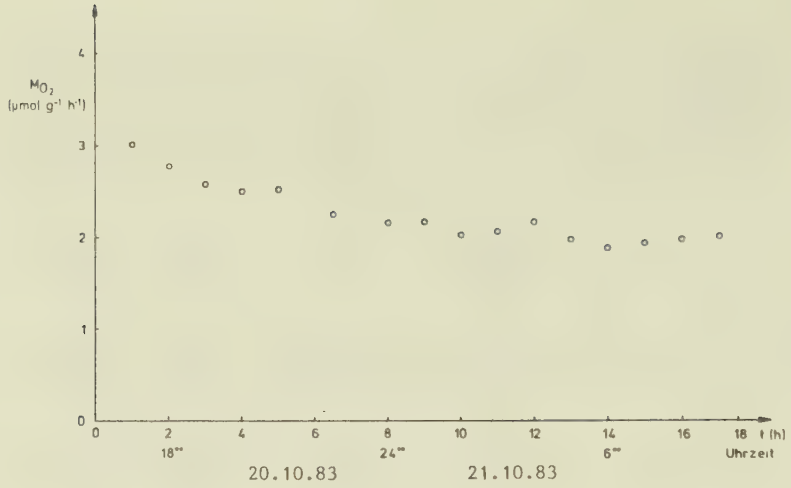

Abb. 28
Sauerstoffverbrauch eines Fisches in Abhängigkeit von der Zeit, die das Tier im Respirometer war (T = 12,5°C)

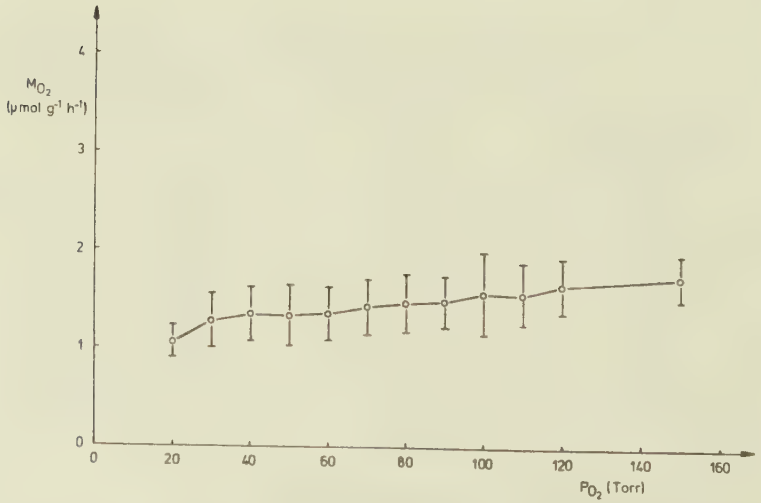

Abb. 29
Sauerstoffverbrauch von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2
($x \pm SD$; n = 5; T = 12,5°C)

Torr. Mit beginnender Verminderung des Po_2 stieg die Ventilationsfrequenz zunächst kaum, bei Partialdrücken von weniger als 100 Torr kontinuierlich. Bei einem Po_2 von 20 Torr wurde schließlich eine Frequenz von 85,6 $\pm$ 3,0 Schlägen pro Minute erreicht.

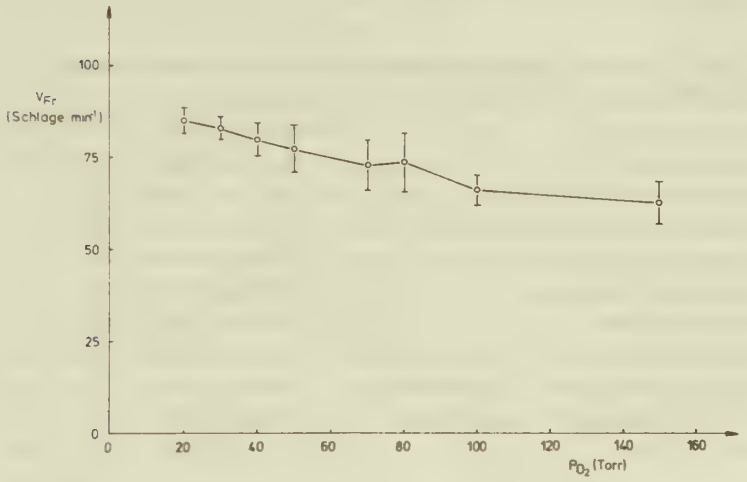

Abb. 30
Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) in Abhängigkeit vom Po_2 (n = 5)

Mit fallendem Po_2 nahm die Amplitude der Impedanz bei allen Tieren zu. Eine Kalibration dieser Messungen war nicht möglich. Dennoch kann, wie die Beobachtung einiger Tiere ergab, dieses Ergebnis als Hinweis darauf gewertet werden, daß nicht nur die Frequenz anstieg, sondern daß auch die Amplitude der Operkularbewegungen unter Bedingungen des Sauerstoffmangels größer wurde.

2.2. Energiestoffwechsel von Blennius pholis in Abhängigkeit vom Po_2

2.2.1. Bestimmung von Enzymaktivitäten

Die Ergebnisse der Bestimmungen von Enzymaktivitäten in Rohhomogenaten des Muskelgewebes sind in Tabelle 14 zusammengefaßt.

Tabelle 14
Enzymaktivitäten im Rohhomogenat des Muskelgewebes von Blennius in $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg ($x \pm SD$; $n = 5$)

Phosphorylase	21,0 ± 4,5
Hexokinase	0,05 ± 0,03
Phosphofructokinase	23,3 ± 7,9
Glycerinaldehydphosphatdeh.	189,5 ± 101,7
Pyruvatkinase	262,6 ± 26,8
Laktatdehydrogenase	103,0 ± 11,9
Citratsynthase	0,7 ± 0,2
Malatdehydrogenase	68,8 ± 24,0
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	38,4 ± 14,0
Glutamat-Pyruvat-Transaminase	4,6 ± 0,9
Creatinkinase	2633 ± 472

Die Enzyme der Glykolyse zeichneten sich durch hohe Aktivitäten aus. Lediglich die Hexokinase-Aktivität war mit 0,05 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg sehr gering. Die Aktivität der Phosphorylase betrug nach Aktivierung durch AMP-Zugabe 21,0 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg. Die Aktivität der Phosphorylase a war kaum meßbar. Die anderen Enzyme der Glykolyse zeigten Aktivitäten von über 100 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg.

Die höchste Aktivität war mit 2633 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg für die Creatinkinase festzustellen. Die Aktivität der Citratsynthase, ein Leitenzym des Zitronensäurezyklus, betrug lediglich 0,7 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg. Von den Transaminasen des Aminosäurestoffwechsels hatte die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase mit 38,4 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg eine deutlich höhere Aktivität als die Glutamat-Pyruvat-Transaminase mit 4,6 $\mu mol \cdot min^{-1} \cdot g^{-1}$ Fg.

2.2.2. Metabolitbestimmungen in der Muskulatur

Für die Inkubationen unter hypoxen Bedingungen wurden jeweils fünf Tiere nach einer Adaptationszeit von ca. 15 bis 20 Stunden für je 6 Stunden Sauerstoffpartialdrücken von 150, 85, 60, 40 bzw. 15 Torr ausgesetzt. Anschließend wurden in den Extrakten des Muskelgewebes zunächst die Adenylate sowie das Creatinphosphat bestimmt.

Die Adenylatgehalte waren weitgehend konstant (Tabelle 15). Lediglich bei einem Po_2 von 15 Torr war ein geringer Abbau des ATP nachzuweisen ($p<0,05$). Auch die Zunahme des ADP-Gehaltes war gering, aber signifikant bei Po_2-Werten von 85, 40 und 15 Torr ($p<0,02$). Eine Verringerung des Adenylatpegels ließ sich nicht nachweisen ($p>0,05$). Der Energieinhalt (EC) schwankte dementsprechend nur gering mit Werten zwischen 0,92 und 0,95 (Abb. 31). Das Creatinphosphat wurde bei Po_2-Werten unter 60 Torr transphosphoryliert. Während unter normoxen Bedingungen ein Gehalt von 18,5 $\pm$ 0,7 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg Creatinphosphat erreicht wurde, betrug er nach einer 6-stündigen Inkubation bei 15 Torr Po_2 noch 13,3 $\pm$ 3,0 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg (Abb. 31).

Der Gehalt an Glucose-6-phosphat sowie an Laktat (Abb. 32) blieb bis zu einem Po_2 von 40 Torr nahezu unverändert. Bei einem Po_2 von 15 Torr war jedoch der Laktatgehalt um 2,1 µmol auf 2,6 $\pm$ 0,9 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg und der Glucose-6-phosphatgehalt um 2,6 µmol auf 2,9 $\pm$1,7 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg angestiegen. Äthanol konnte in den Extrakten nicht nachgewiesen werden.

2.2.3. Metabolitbestimmungen im Blut

Wie bei Lumpenus so wurden auch bei Blennius nach den Inkubationen bei unterschiedlichem Grad an Hypoxie Blutproben für die Bestimmung von Metaboliten entnommen.

In diesen Blutproben waren sowohl ATP als auch GTP nachweisbar. Die ATP-Konzentration war jedoch mit 2,13 $\pm$ 0,44 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut wesentlich höher als die GTP-Konzentration, die 0,35 $\pm$ 0,18 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut betrug. Eine Korrelation zwischen Po_2 und ATP-Konzentration war nicht feststellbar. Nach der Inkubation bei 15 Torr Po_2 betrug die ATP Konzen-

Tabelle 15

Metabolitkonzentrationen in $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg sowie der Energieinhalt im Muskelgewebe von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2 ($x \pm SD$: n = 4, # n = 5; T = 12,5°C)

Po_2 (Torr)	ATP	ADP	AMP	EC	Adenylate
150#	5,50 ± 0,76	0,51 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,95 ± 0,01	6,05 ± 0,71
85	4,80 ± 0,33	0,68 ± 0.04*	0 07 ± 0.03	0,93 ± 0,01	5 56 ± 0.34
60	4,93 ± 0,30	0,59 ± 0,07	0,06 ± 0,01	0,94 ± 0,01	5,57 ± 0,30
40	4,63 ± 0,44	0,70 ± 0 05*	0.06 ± 0,01	0,92 ± 0,01	5.39 ± 0.49
15#	4,66 ± 0,46*	0,69 ± 0,08*	0.06 ± 0,03	0,92 ± 0,02	5,42 ± 0.42

* = signifikant verschieden von den Kontrollen mit $p<0,05$

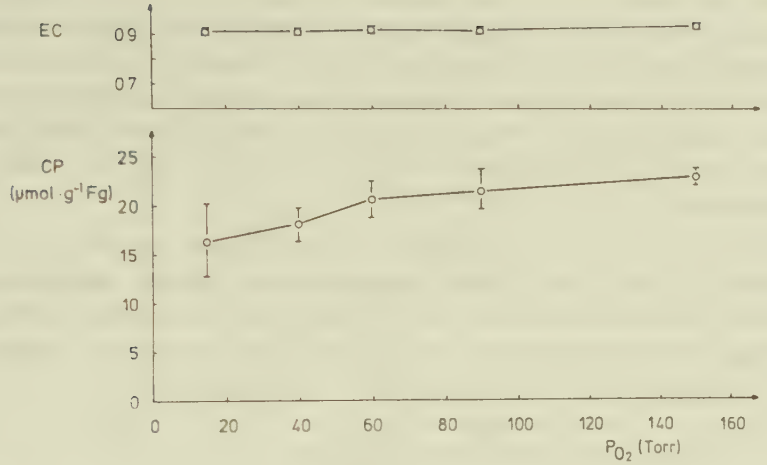

Abb. 31
Energieinhalt und Gehalt an Creatinphosphat im Muskelgewebe von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 6 h; (n = 4, außer Po_2 = 150 bzw. 15 Torr mit n = 5; x ± SD; T = 12,5°C)

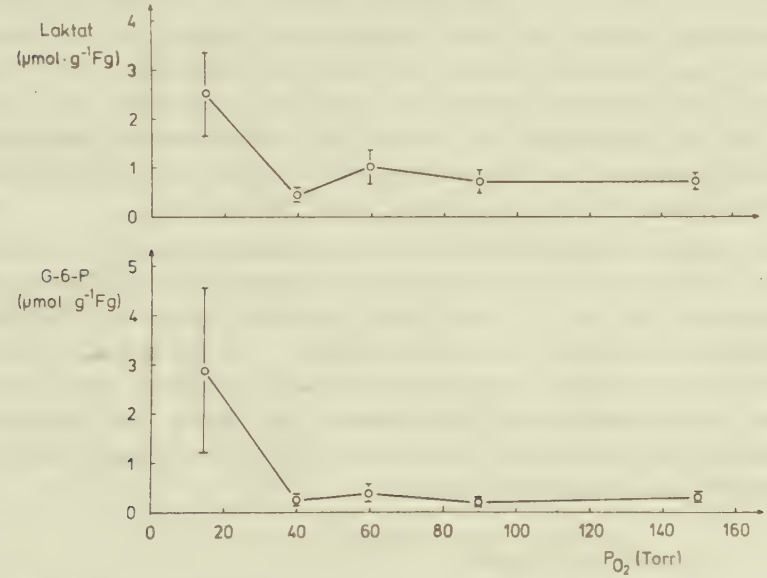

Abb. 32
Gehalt an Laktat und Glucose-6-phosphat im Muskelgewebe von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 6 h; (n = 4, außer Po_2 = 150 bzw. 15 Torr mit n = 5; x ± SD; T = 12,5°C)

tration zwar 1,85 ± 0,28 µmol·ml^{-1} Blut, aber aufgrund der hohen Standardabweichungen waren die Werte nicht signifikant verschieden ($p>0,2$). Eine deutliche Konzentrationsabnahme des GTP war nach einer Inkubation bei 40 Torr und besonders bei einem Po_2 von 15 Torr zu erkennen. Bei diesem niedrigen Po_2 war die GTP-Konzentration auf 0,07 ± 0,05 µmol·ml^{-1} Blut abgesunken ($p<0,01$; Abb. 33).

Weiterhin wurde die Konzentration an Glucose und Laktat bestimmt. Änderungen in den Konzentrationen beider Metabolite waren erst bei einem Po_2 von 15 Torr festzustellen. Laktat stieg um 3,0 µmol auf 3,2 ± 1,5 µmol·ml^{-1} Blut und Glucose um 1,0 µmol auf 2,3 ± 0,3 µmol·ml^{-1} Blut (Abb. 34).

2.3. Luftatmung von Blennius pholis

Manche Fische besitzen die für diesen Tierstamm ungewöhnliche Fähigkeit, für viele Stunden ohne Zugang zum Wasser an der Luft zu überleben. Auch Blennius zeigt dieses Verhalten. Es stellt sich dabei die Frage, ob sich an Land bei dieser Art die Rate der Sauerstoffaufnahme und die der CO_2-Ausscheidung ändert. Es wurde deshalb der respiratorische Quotient bei Tieren bestimmt, die sich mit dem ganzen Körper an der Luft befanden. Zusätzlich wurden Blutproben, die mit Hilfe von chronisch implantierten Mikrokathetern gewonnen werden konnten, unter atmungsphysiologischen Gesichtspunkten (Bestimmung von pH, Po_2, Pco_2, Cco_2) analysiert.

Ein wesentliches Enzym für die CO_2-Ausscheidung im Wasser ist die Carboanhydrase. Da die Carboanhydrase bei der Ausscheidung von CO_2 an die Luft ebenfalls eine wesentliche Rolle spielen könnte, wurde versucht, dieses Enzym in verschiedenen Geweben, die am Gasaustausch beteiligt sein könnten, histochemisch zu lokalisieren. Mit Hilfe von Inhibitoren der Carboanhydrase sollte zudem ihre Beteiligung am CO_2-Stoffwechsel verfolgt werden.

2.3.1. RQ bei Luftatmung

Nach Ablauf der Adaptationszeit konnte das Wasser aus dem Respirometer abgelassen werden, ohne daß der Fisch direkt berührt werden mußte. Nur unter solchen Bedingungen kann ein

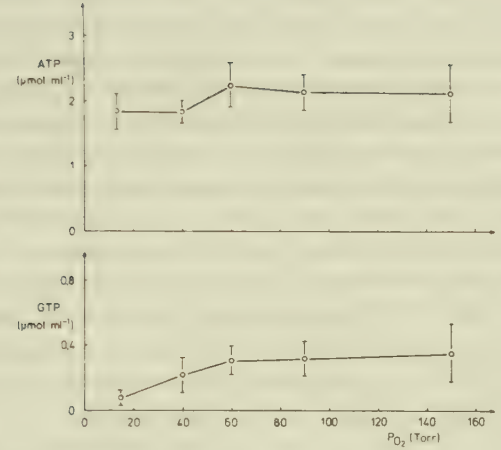

Abb. 33
Konzentrationen von ATP und GTP im Blut von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 6 h; (n = 5, außer Po_2 = 60 bzw. 40 Torr mit n = 4; x ± SD; T = 12,5°C)

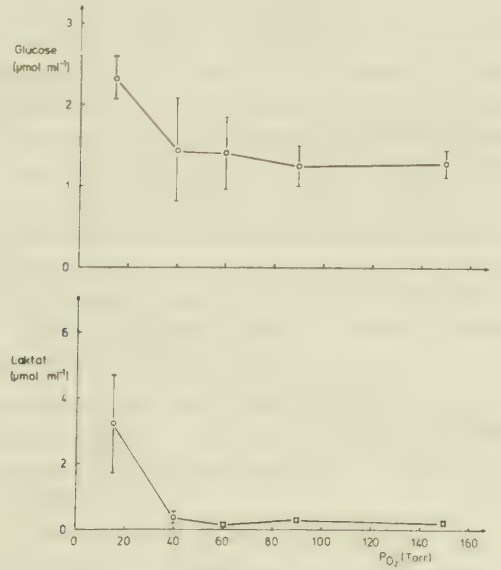

Abb. 34
Konzentrationen von Glucose und Laktat im Blut von Blennius in Abhängigkeit vom Po_2; Inkubationszeit 6 h; (n = 5, außer Po_2 = 60 bzw. 40 Torr mit n = 4; x ± SD; T = 12,5°C)

den Ruhebedingungen entsprechender Sauerstoffverbrauch gemessen werden.

Bei 12 Fischen mit einem Gewicht von 13,3 bis 67,7 g wurde an der Luft die CO_2-Ausscheidung und der Sauerstoffverbrauch bestimmt. Der Sauerstoffverbrauch und die CO_2-Ausscheidung in Abhängigkeit von der Dauer der Luftatmung sind in Abbildung 35 wiedergegeben. Bedingt durch den hohen Anteil an Sauerstoff in der Luft fiel der Anteil dieses Gases im Respirometer auch nach vier Stunden nicht unter 20,0 Vol%. Der Po_2 fiel also um etwa 5 - 6 Torr, was bei einem Partialdruck von etwa 155 Torr bedeutungslos ist. Der Anteil des Kohlendioxids in dem Respirometer stieg von 0,03 auf bis zu 0,6 Vol% während vierstündiger Luftatmung oder auf einen Pco_2 von annähernd 5 Torr. Damit befanden sich die Tiere in einer Hypercapnie, da der Pco_2 in Luft lediglich 0,02 - 0,03 Torr beträgt.

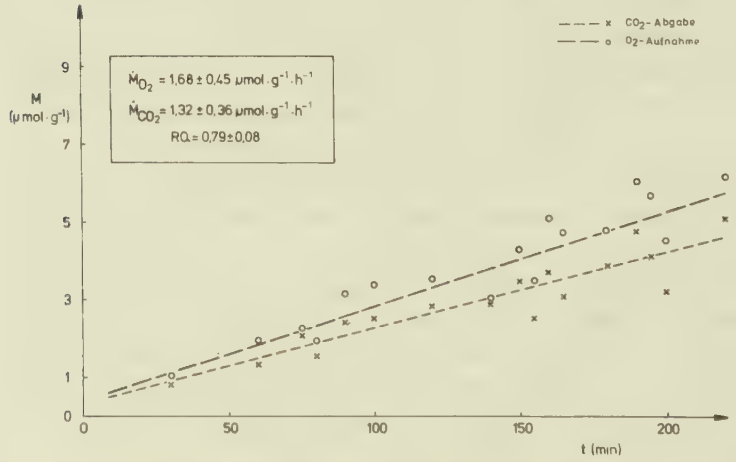

Abb. 35
Gasaustausch von Blennius pholis bei Luftatmung. Aufgetragen sind die Mittelwerte der bei der jeweiligen Meßzeit vorhandenen Einzelmeßergebnisse (je 2-6 Meßwerte; n = 12 Tiere)

Aus Abbildung 35 wird aber deutlich, daß diese Hyperkapnie noch keine Beeinträchtigung des Gaswechsels zur Folge hatte. Es war keine Verringerung der CO_2-Ausscheidung zu erkennen. Über den gesamten Versuchszeitraum ließ sich eine Regressionsgerade mit $r = 0,92$ berechnen. Auch die Sauerstoffaufnahme war linear ($r = 0,93$), und aus dem Anstieg der beiden Geraden ließ sich ein respiratorischer Quotient von 0,806 berechnen. Die mittlere Rate der CO_2-Ausscheidung der Fische betrug $1,3 \pm 0,3$ $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ und der mittlere Sauerstoffverbrauch $1,7 \pm 0,5$ $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$. Der daraus zu berechnende respiratorische Quotient betrug $0,79 \pm 0,08$ (Abb. 35).

In weiterführenden Experimenten wurde ein Zweikammerrespirometer eingesetzt, das eine Unterscheidung zwischen dem Gasaustausch des Kopfbereiches (Kopf einschließlich Operkularöffnungen) und des Restkörpers des Fisches zuließ. Der Gaswechsel von drei Fischen wurde in diesem Respirometer analysiert. Dabei zeigte sich, daß in der Kopfregion und am restlichen Körper je 50% des Gasaustausches stattfinden. Allerdings war im Vorderkörper die Sauerstoffaufnahme und im Hinterkörper die CO_2-Abgabe geringfügig höher (Tabelle 16).

Es wurden keine weiteren Versuche durchgeführt, da bei den Tieren, nachdem sie sich im kompartimentierten Respirometer befanden, innerhalb der folgenden 24 Stunden die Haut erblaßte und die Fische schließlich starben. Weitere Testversuche, in denen die Fische kurzzeitig (1 h) mit einer Neoprenmembran oder mit einem Gummiband umwickelt wurden, verliefen ebenfalls negativ. Auch ein feiner Ring von Gewebekleber (Histoacryl), der sich nach einer Stunde bereits teilweise gelöst hatte und dann vollständig entfernt wurde, führte zum Tod der Tiere.

In einem Parallelexperiment konnte Gobius cobitis, ebenfalls ein Felstümpelbewohner, für die Versuche eingesetzt werden. Diese Art überlebte die Experimente.

2.3.2. Säure-Basen-Haushalt bei Luftatmung

Für die Untersuchung des Säure-Basen-Haushaltes wurde großen Tieren (über 45 g) mindestens 24 Stunden vor dem eigentlichen Experiment ein Mikrokatheter in den Bulbus arteriosus

Tabelle 16
Gasaustausch von Blennius im kompartimentierten Respirometer (T = 12,5°C)

Tier (g)	Kopf $\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot h^{-1}$)	Restk. $\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot h^{-1}$)	Gesamt $\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	Kopf $\dot{M}co_2$ ($\mu mol \cdot h^{-1}$)	Restk. $\dot{M}co_2$ ($\mu mol \cdot h^{-1}$)	Gesamt $\dot{M}co_2$ ($\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	Kopf RQ	Restk. RQ	Gesamt RQ
37,0	33,56	32,01	1,77	24,59	28,55	1,44	0,73	0,89	0,81
44,6	38,75	36,98	1,70	30,94	25,97	1,28	0,80	0,70	0,75
46,2	26,69	26,09	1,21	25,27	29,92	1,19	0,85	1,19	0,99

implantiert. Zu Beginn des Experiments wurde jeweils eine Probe des venösen Blutes entnommen und analysiert. Diese Kontrollmessungen ergaben einen pH-Wert von 7,686 ± 0,062 bei einem Pco_2 von 2,56 ± 0,57 Torr und einer Bikarbonatkonzentration von 5,89 ± 1,20 $mmol \cdot l^{-1}$ Blut. Der mittlere Po_2 des venösen Blutes wurde mit 26,8 ± 9,7 Torr bestimmt. Bei drei Tieren wurde auch eine Laktatbestimmung vorgenommen. Das Blut enthielt unter diesen Kontrollbedingungen 0,27 ± 0,1 µmol Laktat pro ml Blut.

Im Anschluß an diese Messungen wurde das Wasser langsam aus dem Versuchsbecken entfernt. Nach drei Stunden Luftatmung wurde eine weitere Blutprobe entnommen und analysiert (Tabelle 17).

Tabelle 17
Atmungsphysiologische Analyse der venösen Blutproben von katheterisierten Tieren unter Kontrollbedingungen und nach 3 Stunden Luftatmung (n = 12; Laktatbest. n = 3 bzw. 5; T = 12,5°C)

	Einheit	Kontrolle (x ± SD)	3h Luftatmung (x ± SD)
pH	log H^+	7,686 ± 0,062	7,493 ± 0,107*
Pco_2	Torr	2,56 ± 0,57	3,65 ± 0,78*
Cco_2	$mmol \cdot l^{-1}$	6,05 ± 1,22	4,67 ± 1,16*
HCO_3^-	$mmol \cdot l^{-1}$	5,89 ± 1,20	4,44 ± 1,15*
Po_2	Torr	26,8 + 9,7	25,1 ± 9,9
Hämatokrit	Vol-%	10,8 ± 1,7	13,6 ± 4,1
Laktat	$umol \cdot ml^{-1}$	0,27 ± 0,10	1,50 ± 0,90*

* = signifikant verschieden von den Kontrollen ($p<0,02$)

Drei Stunden Luftatmung führten zu einer Acidose. Der pH-Wert sank um 0,19 pH-Einheiten bei gleichzeitigem Anstieg des Pco_2 um 1,09 Torr auf 3,65 Torr. Die Bikarbonatkonzentration fiel auf 4,44 $mmol \cdot l^{-1}$ Blut, der Po_2 war mit 25,1 ± 9,9 Torr unverändert gegenüber den Kontrollmessungen. Bei fünf Tieren wurden wiederum eine Blutprobe für die Bestimmung von Laktat entnommen. Die Laktatkonzentration betrug 1,5 ± 0,9 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut und war somit um 1,2 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ gestiegen.

Abbildung 36 zeigt die zusammenfassende Darstellung der

Parameter des Säure-Basen-Haushaltes im pH-Bikarbonat-Diagramm. Die Puffergeraden für oxygeniertes und desoxygeniertes Blut wurden von Bridges (in Vorbereitung) übernommen. Die unter Kontrollbedingungen gewonnenen Meßwerte lagen fast auf der durch in vitro Versuche erstellten Puffergeraden des desoxygenierten Blutes. Die Veränderungen bei Luftatmung erfolgten nicht entlang dieser Puffergeraden, so daß ein hoher metabolischer Anteil an der Acidose nachzuweisen war (für entsprechende Berechnungen siehe 2.3.6, Tabelle 21).

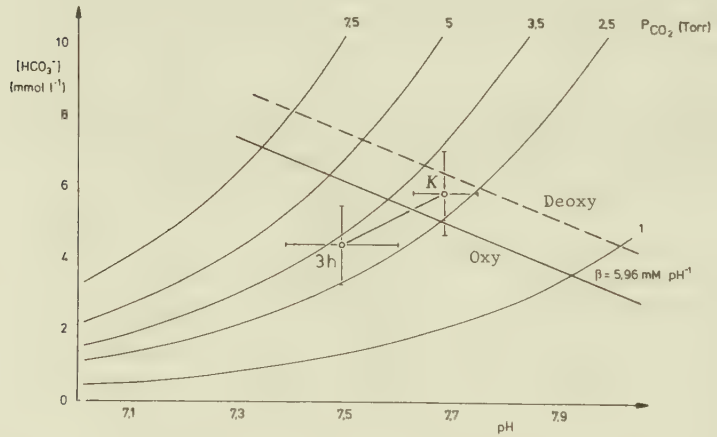

Abb. 36
Darstellung der Parameter des Säure-Basen-Haushaltes unter Kontrollbedingungen und nach 3 h Luftatmung im pH-Bikarbonat-Diagramm; die Puffergeraden sind von Bridges (in Vorbereitung) übernommen

2.3.3. Ventilation und Herzaktivität

Die Ventilationsfrequenz (Operkularbewegungen) wurde mit der Impedanztechnik bestimmt. In normoxem Wasser betrug die Ventilationsfrequenz 65 - 70 Schläge pro Minute. Die Übergangsphase zur Luftatmung war durch heftige, schnappende Atembewegungen gekennzeichnet, wobei die Operkula gelegentlich geöffnet waren. Nach höchstens einer Minute war der Übergang zur ruhigen, gleichmäßigen Atmung mit geschlossenen Operkula vollzogen. Nach dem Übergang zur Luftatmung ver-

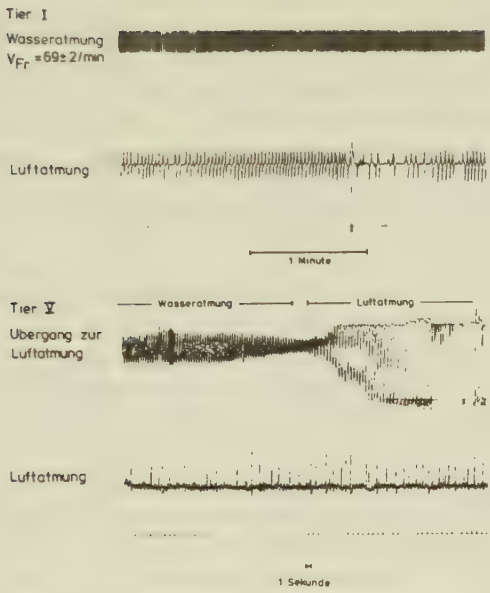

Abb. 37
Einfluß der Luftatmung auf die Ventilation (Operkularbewegungen) von Blennius

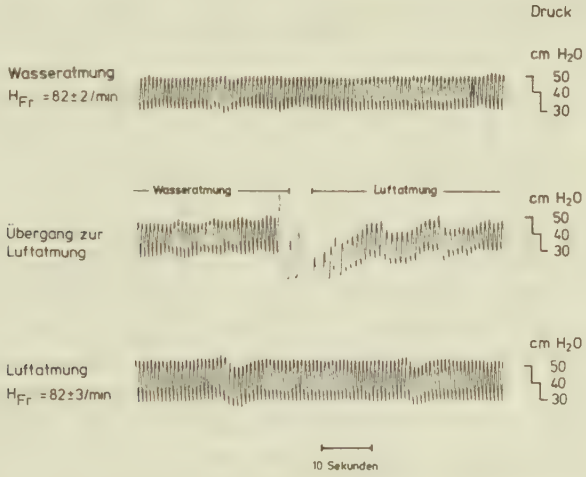

Abb. 38
Einfluß der Luftatmung auf die Herzaktivität von Blennius

sagte diese Meßtechnik aus noch ungeklärten Gründen bei manchen Tieren, während bei anderen eine gute Aufzeichnung der Ventilationsbewegungen möglich war (Abb. 37). Die Ventilationsbewegungen waren deutlich zu erkennen, aber die Frequenz der Operkularbewegungen war stark reduziert. Eine Beobachtung der Tiere ergab, daß das Maul in dieser Phase leicht geöffnet und die Operkularöffnungen geschlossen waren.

Die Herzaktivität, die bei katheterisierten Tieren mit einem Druckaufnehmer aufgezeichnet wurde, zeigte in normoxem Wasser eine Frequenz von durchschnittlich 80,1 ± 8,7 Schlägen pro Minute. Die Übergangsphase zur Luftatmung war durch eine wenige Sekunden andauernde Bradykardie gekennzeichnet (Abb. 38). Der Herzschlag normalisierte sich jedoch wieder, und sowohl die Frequenz als auch der Blutdruck waren nahezu unverändert gegenüber den Kontrollmessungen (Tabelle 18). Der diastolische Blutdruck, der in Tabelle 18 durch den niedrigeren Blutdruckwert repräsentiert ist, betrug im Mittel 25,1 mm H_2O. Während der Kontraktionsphase des Herzens betrug der Druck dagegen 42,1 mm H_2O.

Tabelle 18
Herzaktivität von Blennius im Wasser und bei Luftatmung

	Im Wasser		Luftatmung	
Tier	Frequenz H_{fr}	Blutdruck mm H_2O	Frequenz H_{fr}	Blutdruck mm H_2O
4	64,4 ± 2,2	25 - 34	61,0 ± 1,1	23 - 34
5	70,5 ± 0,8	-	68,1 ± 2,0	-
6	90,0 ± 1,0	41 - 48	88,9 ± 1,5	45 - 52
7	82,2 ± 1,7	19 - 45	82,0 ± 3,2	32 - 55
8	91,0 ± 1,6	40 - 65	80,0 ± 4,2	40 - 65
9	85,5 ± 2,5	14 - 33	72,5 ± 4,6	19 - 31
10	77,5 ± 2,3	16 - 36	75,3 ± 3,6	25 - 40
14	77,6 ± 1,1	15 - 33	75,7 ± 1,3	13 - 29
16	82,5 ± 1,6	21 - 35	79,1 ± 2,4	21 - 35
x ± SD	80,1 ± 8,7	25,1 ± 10,8 diastolisch 42,1 ± 11,2 systolisch	75,8 ± 8,1	27,3 ± 10,9 diastolisch 42,6 ± 13,1 systolisch

(13,6 mm H_2O ≙ 1 mm Hg)

Bei Luftatmung ergaben sich 27,3 mm H_2O für den diastolischen Druck und 42,6 mm H_2O für den systolischen Druck. Die

Herzfrequenz war um 4,3% niedriger als bei Wasseratmung. Diese Änderung ist jedoch unter Berücksichtigung der Standardabweichung zu gering, um von einer Bradykardie sprechen zu können ($p>0,09$).

2.3.4. Der Energiestoffwechsel des Muskelgewebes

Ein interessanter Aspekt bei den Analysen zur Luftatmung ist der Energiestoffwechsel der Muskulatur. Zur Bestimmung von Metaboliten des Stoffwechsels wurden bei einer Versuchsgruppe 30 Minuten nach Beginn der Luftatmung, und bei einer anderen Versuchsgruppe 6 Stunden nach Beginn der Luftatmung Muskelgewebeproben genommen. Kontrollproben wurden direkt nach dem Trockenfallen der Tiere gewonnen. Die Ergebnisse der Metabolitbestimmungen sind in Tabelle 19 aufgelistet.

Tabelle 19
Metabolitkonzentrationen in der Muskulatur von Blennius nach verschiedenen Zeiten der Luftatmung in $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg

	Kontrolle $x \pm SD$ $(n = 5)$	30 Minuten $x \pm SD$ $(n = 4)$	6 Stunden $x \pm SD$ $(n = 4)$
AMP	0,08 ± 0,04	0,07 ± 0,04	0,06 ± 0,03
ADP	0,66 ± 0,10	0,46 ± 0,11*	0,40 ± 0,12*
ATP	4,42 ± 0,77	2,80 ± 1,55	2,40 ± 1,05*
EC	0,92 ± 0,02	0,90 ± 0,03	0,90 ± 0,02
TA	5,17 ± 0,75	3,33 ± 1,65	2,86 ± 1,15*
CP	14,67 ± 2,95	15,41 ± 4,21	17,47 ± 5,36
Laktat	0,56 ± 0,20	0,59 ± 0,12	0,97 ± 0,69
G-6-P	0,26 ± 0,24	0,27 ± 0,17	0,78 ± 0,74

* = sinifikant verschieden von den Kontrollen mit $p<0,05$

Die Bestimmung der Adenylate und die anschließende Berechnung des Energieinhaltes ergaben einen EC von 0,92 bzw. 0,90 für die drei Versuchsgruppen. Der Energieinhalt wurde somit durch die Luftatmung nicht beeinflußt. Auffällig war jedoch, daß, obwohl der ATP-Gehalt deutlich zurückging, kein entsprechender Anstieg der anderen beiden Adenylate AMP und ADP zu erkennen war. Der Gehalt dieser beiden Metabolite verringerte sich vielmehr auch, so daß der Gesamtadenylatpegel verringert wurde. Bei den Kontrolltieren betrug der Adenylatgehalt 5,17 ± 0,75 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg. Nach 6 Stunden Luftatmung

war er auf 2,86 ± 1,15 µmol·g^{-1} Fg zurückgegangen. Der größte Teil dieses Nucleotidabbaus erfolgte hier offensichtlich bereits in den ersten 30 Minuten, denn nach dieser Zeit war die Konzentration bereits auf 3,33 ± 1,65 µmol·g^{-1} Fg gefallen.
Der Gehalt an Creatinphosphat blieb trotz fallenden ATP-Gehaltes konstant bzw. stieg sogar geringfügig an. Hierbei ergab sich eine sehr hohe Standardabweichung, so daß eine sichere Aussage nicht gemacht werden kann ($p>0,3$). Auch der Gehalt an Laktat und Glucose-6-phosphat änderte sich nicht signifikant ($p>0,1$).

Auffallend war, daß die individuellen Schwankungen im Gehalt der einzelnen Metabolite bei den einzelnen Tieren nach 6 Stunden Luftatmung häufig wesentlich größer waren als bei den Kontrolltieren.

2.3.5. Histochemischer Nachweis der Carboanhydrase

Die histochemische Lokalisation der Carboanhydrase erfolgte in den Geweben, die für den Gasaustausch bei Blennius pholis in Frage kommen. Das sind die Kiemen, die Haut und der Ösophagus.

Der Test auf Eigenfluoreszenz der Gewebe war in allen Fällen negativ. Lediglich das afferente Blutgefäß in den Kiemenfilamenten zeigte eine schwache Fluoreszenz, welche auf die Elastica interna zurückgeht (Dermietzel et al, 1985).

Die Abbildung 39 zeigt Quer- und Längsschnitte durch die Kiemen von Blennius pholis. Das Enzym Carboanhydrase ist vorwiegend in den Filamenten lokalisiert und kaum auf den Kiemenlamellen. In den Filamenten konzentrierte sich die Fluoreszenz auf den mittleren Bereich, d.h. auf den Bereich des zentralen Sinus (Abb 39b). In der Nähe des afferenten Gefäßes und vor allem am efferenten Gefäß war kaum Fluoreszenz festzustellen (Abb. 39c). Auf den Lamellen war lediglich an der Basis, also am Übergang zum Filament, Fluoreszenz nachzuweisen. Durch die Inkubation des Schnittes in einer $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA-Lösung ließ sich die Fluoreszenz stark reduzieren (Abb. 39d). Wurde zusätzlich $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid, ein Hemmstoff der Carboanhydrase, zugesetzt, so war

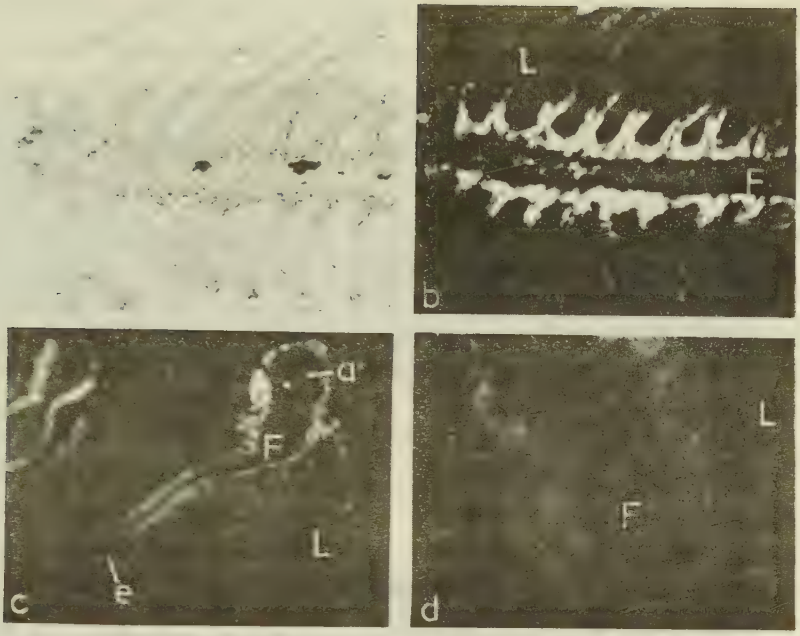

Abb. 39
Fluoreszenzmikroskopische Lokalisation der Carboanhydrase in den Kiemen von Blennius. Die Gefrierschnitte wurden in 10^{-4} M DNSA (a.b.c) bzw. in $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA (d) inkubiert.
a) Phasenkontrastaufnahme eines Kiemenlängschnittes (Vergrößerung 92-fach)
b) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme des Schnittes (Vergrößerung 92-fach)
c) Fluoreszenzaufnahme eines Querschnittes durch die Kiemen (Vergrößerung 58-fach)
d) Längsschnitt, inkubiert in $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA (Vergrößerung 230-fach); (bei Zugabe von $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid zum Inkubationsmedium war kaum noch Fluoreszenz nachweisbar)
(F = Filament; L = Lamellen; a = afferentes Gefäß; e = efferentes Gefäß)

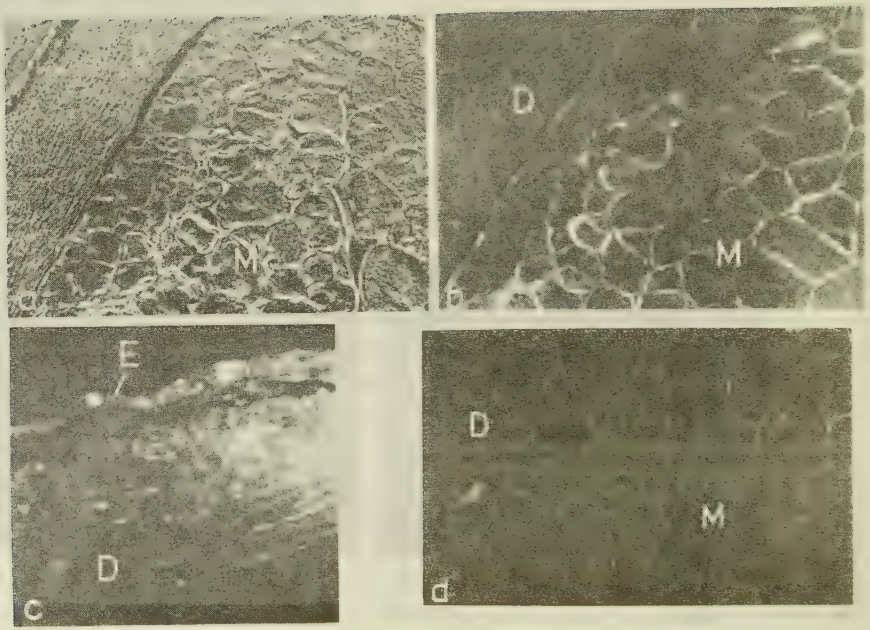

Abb. 40
Histochemische Lokalisierung der Carboanhydrase in der Haut von Blennius. Die Gefrierschnitte wurden in 10^{-4} M DNSA (a,b,c) bzw. in $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA (d) inkubiert.

a) Phasenkontrastaufnahme eines Querschnittes durch die Haut (Vergrößerung 36-fach)
b) Fluoreszenzaufnahme des Schnittes (Vergrößerung 34-fach)
c) Schnitt durch die Epidermis und die Dermis (Vergrößerung 87-fach)
d) Querschnitt durch die Haut, inkubiert in $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA (Vergrößerung 34-fach); (bei Zugabe von $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid zum Inkubationsmedium war kaum noch Fluoreszenz vorhanden)

(D = Dermis; E = Epidermis; M = Muskelgewebe)

kaum noch Fluoreszenz vorhanden.

Die Haut dient Blennius als wesentliches Organ sowohl für den Ionen- als auch für den Gasaustausch. Inkubiert man dieses Gewebe mit dem Farbstoff DNSA, so fluoreszieren die Membranen der Epidermiszellen kaum. Lediglich einige große Zellen reagieren sehr stark (Abb. 40c). Die Dermis zeigte keinerlei spezifische Fluoreszenz. Stark markiert waren hingegen die Membranen der Muskelgewebezellen unterhalb der Dermis. Bei einer Übersichtsaufnahme von der Haut mit dem anhaftenden Muskelgewebe (Abb. 40b) dominierte die Fluoreszenz der Muskelmembranen so stark, daß die schwache Färbung der Epidermis nicht mehr zu erkennen war. Eine Inkubation mit $3 \cdot 10^{-5}$ M DNSA führte wiederum zu einer verminderten Fluoreszenz (Abb.40d), und bei Zugabe von $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid zur Inkubationslösung war kaum noch Fluoreszenz nachzuweisen.

F = Ösophagus-
falte
L = Lumen

Abb. 41
Fluoreszenzaufnahme des Ösophagus (kurz vor Beginn des Darmes). Der Gefrierschnitt wurde mit 10^{-4} M DNSA in Phosphatpuffer inkubiert (Vergr. 44-fach)

Auch der Ösophagus ist auf die Präsenz der Carboanhydrase hin untersucht worden. Dieses Organ ist etwa 5 - 10 mm lang und leitet direkt zum Darm über, da Blennius keinen Magen hat. Im ersten Teil des Ösophagus konnte keine Carboanhy-

drase nachgewiesen werden. Erst kurz vor Beginn des Darmes war dieses Enzym in den Epithelzellen vorhanden (Abb. 41), wenngleich die Fluoreszenz nicht so deutlich war wie in den Kiemen oder den Membranen der Muskelzellen. Durch Inkubation mit $2 \cdot 10^{-4}$ M Methazolamid ließ sich auch hier die Fluoreszenz unterdrücken.

2.3.6. Säure-Basen-Haushalt bei Hemmung der Carboanhydrase

Um nach den bisherigen Ergebnissen sichere Auskunft darüber zu erhalten, ob die Carboanhydrase an der CO_2-Ausscheidung bei Luftatmung beteiligt ist, wurden weitere in vivo Versuche durchgeführt, bei denen dieses Enzym durch das Sulfonamid Methazolamid gehemmt wurde. Sechs katheterisierten Tieren wurde in normoxem Wasser eine Blutprobe abgenommen. Die Analyse dieser venösen Proben ergab einen pH-Wert von 7,57 bei einem Pco_2 von 2,89 mm Hg (Tabelle 20).

Tabelle 20
Atmungsphysiologische Analyse der venösen Blutproben von katheterisierten Tieren unter Kontrollbedingungen und nach 3 Stunden Luftatmung unter Hemmung der Carboanhydrase (n = 6; Laktatbest. n = 3)

	Einheit	Kontrolle (X ± SD)	3h Luftatmung (X ± SD)
pH	log H^+	7,570 ± 0,110	7,168 ± 0,139*
Pco_2	Torr	2,89 ± 0,43	6,07 ± 1,02*
Cco_2	$mmol \cdot l^{-1}$	5,43 ± 1,46	4,63 ± 1,12
HCO_3^-	$mmol \cdot l^{-1}$	5,33 ± 1,32	4,24 + 1,10
Po_2	Torr	29,3 ± 6,4	18,0 ± 7,1 *
Hämatokrit	Vol-%	9,7 ± 4,1	9,7 ± 4,1
Laktat	$\mu mol \cdot ml^{-1}$	n.b.	1,50 ± 0,64

* = signifikant verschieden von den Kontrollen mit $p<0,05$
n.b. = nicht bestimmt

Der pH-Wert lag also etwas niedriger als bei den Kontrollmessungen zum Säure-Basen-Haushalt der ersten Versuchsserie. Die Bikarbonatkonzentration betrug 5,3 $mmol \cdot l^{-1}$ Blut und der Po_2 29,3 ± 6,4 Torr. Im Anschluß an diese Messungen

wurde den Tieren durch den Katheter das verbliebene Blut mit dem Inhibitor in einer Konzentration von 10^{-4} $M \cdot kg^{-1}$ injiziert. Danach wurde wie bei der ersten Versuchsserie mit katheterisierten Tieren das Wasser aus dem Aquarium vorsichtig abgezogen, und die Fische wurden für drei Stunden in Luft gehalten.

Nach drei Stunden wurde eine weitere Probe venösen Blutes entnommen und analysiert (Tabelle 20). Der pH-Wert fiel um 0,402 pH-Einheiten, der CO_2-Partialdruck stieg um 3,18 Torr auf 6,07 Torr. Der Abbau der Bikarbonatkonzentration war mit 1,09 $mmol \cdot l^{-1}$ Blut dem Ergebnis der ersten Versuchsserie vergleichbar. Der venöse Po_2 sank auf 18,0 Torr. Bei drei Tieren wurde die Laktatkonzentration in der Blutprobe bestimmt. Sie betrug 1,50 $\pm$ 0,64 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut und entsprach ebenfalls dem Wert der ersten Versuchsserie. Das pH-Bikarbonat-Diagramm (Abb. 42) verdeutlicht noch einmal das Ausmaß der Acidose im Vergleich mit dem Ergebnis der ersten Serie.

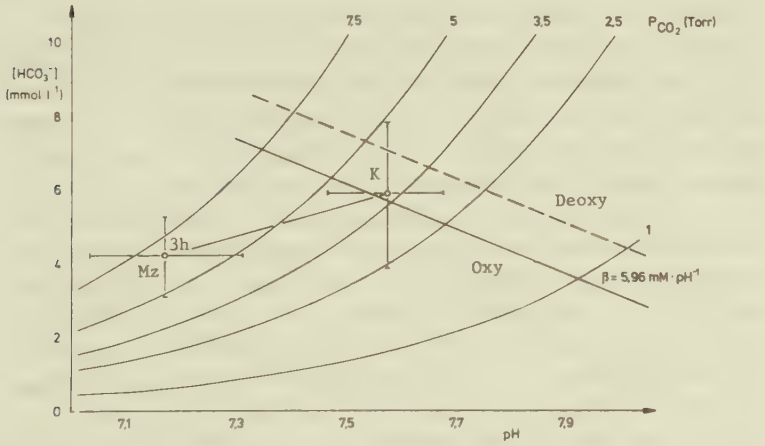

Abb. 42
Veränderungen im Säure-Basen-Haushalt nach 3 h Luftatmung bei gleichzeitiger Hemmung der Carboanhydrase mittels Methazolamid (n = 6)

Die Berechnung der totalen Acidose ergab für die erste Versuchsserie eine Protonenfreisetzung von 2,75 $\pm$ 1,07 $mmol \cdot l^{-1}$ Blut. Nach Hemmung der Carboanhydrase stieg dieser Wert auf 3,45 $\pm$ 0,85 mmol H^+ pro l Blut (Tabelle 21), jedoch ist

dieser Anstieg nicht statistisch abzusichern ($p>0,1$). Die Aufgliederung dieser Acidose nach ihrem respiratorischen und metabolischen Anteil ließ erkennen, daß in beiden Serien der metabolische Anteil mit 2,39 $\pm$ 1,16 bzw. 2,28 $\pm$ 0,91 mmol$\cdot l^{-1}$ gleich groß war. Der stärkere Anstieg der Acidose nach Hemmung der Carboanhydrase war also eindeutig respiratorisch bedingt. Der respiratorische Anteil der Acidose stieg von 0,36 mmol H^+ pro l auf 1,17 mmol H^+ pro l Blut.

Tabelle 21
Protonenbilanz (mmol$\cdot l^{-1}$) nach drei Stunden Luftatmung und gleichzeitiger Hemmung der Carboanhydrase

	3h Luftatm.	3h Luftatm. CA. gehemmt
ΔH^+_{tot}	2,75 $\pm$ 1,07	3,45 $\pm$ 0,86
$\Delta H^+_{resp.}$	0,36 $\pm$ 0,35	1,17 $\pm$ 0,26*
$\Delta H^+_{metab.}$	2,39 $\pm$ 1,16	2,28 $\pm$ 0,91

* signifikant verschieden von den Kontrollen mit $p<0,005$

2.3.7. Histologische Untersuchung des Ösophagus

Der Ösophagus von Blennius pholis ist nach den Ergebnissen von Laming et al. (1982) ein wichtiges Organ für den Gasaustausch. Daher wurden neben den Analysen zur Lokalisation der Carboanhydrase auch die anatomischen Voraussetzungen für eine Beteiligung dieses Organs am Gasaustausch noch einmal untersucht. Die Ausstattung des Ösophagus mit Blutgefäßen wurde lichtmikroskopisch analysiert. Abbildung 43 zeigt, daß dieses Organ kein einfacher Tubus ist, sondern eine Reihe von Längsfaltungen aufweist. In diesen Falten sind jeweils mehrere Blutkapillaren angeschnitten. Die Kapillaren sind dicht unter dem Epithel angeordnet, ihr Abstand vom Lumen beträgt etwa 20 - 25 µm.

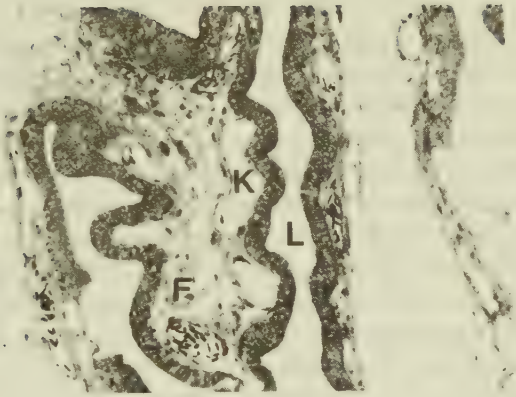

Abb. 43
Semidünnschnitt durch den Ösophagus von Blennius pholis
(Vergrößerung 100-fach)
F = Ösophagusfalte; K = Kapillare; L = Lumen

IV. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurde die Anpasssung der marinen Teleostier Blennius pholis und Lumpenus lampretaeformis an die physikochemischen Bedingungen ihres jeweiligen Lebensraumes untersucht. Die Biotope, in denen diese beiden Fische leben, erscheinen auf den ersten Blick sehr verschieden. Eine genaue Analyse macht jedoch deutlich, daß sowohl in den Felstümpeln, dem Lebensraum von Blennius pholis, als auch im Sediment des Sublitorals, dem Lebensraum von Lumpenus lampretaeformis, starke Schwankungen des Sauerstoffgehaltes und in der CO_2-Konzentration auftreten können. Die atmungsphysiologischen und biochemischen Anpassungen dieser beiden Arten an ein stark variierendes Sauerstoffangebot, insbesondere an Sauerstoffmangelbedingungen, wurden in vergleichenden Untersuchungen analysiert.

Es bestehen aber auch Unterschiede zwischen den Lebensräumen, die dann zu biochemischen und physiologischen Mechanismen der Anpassung führen, die für Blennius und Lumpenus verschieden sind. Blennius pholis lebt in den Felstümpeln der Gezeitenzone und ist in der Lage, das Wasser zu verlassen und an der Luft zu atmen.

Lumpenus lampretaeformis kommt in etwa 20 - 60 m Wassertiefe auf weichem Sediment vor und gehört vermutlich zu den grabenden Fischen, das heißt, er lebt in einem Bau, den der Fisch sich im oft hypoxen Sediment anlegt.

1. Untersuchungen mit Lumpenus lampretaeformis in einem künstlichen Biotop

1.1. Der Bau von Lumpenus

Im Rahmen der Untersuchungen am Bau von Lumpenus gelang es erstmalig, die Grabtätigkeit zu beobachten und sie mit einem Videogerät aufzuzeichnen. Lumpenus gräbt auf eine ganz andere Art und Weise als Cepola rubescens und Lesueurigobius friesii. Diese beiden Species graben mit dem Maul, das heißt, sie nehmen Sediment in ihr Maul auf, tragen es an die Öffnung des Baues und speien es aus (Rice und Johnstone, 1972; Atkinson et al., 1977). Während der Grabaktivität

findet man daher bei diesen beiden Fischen viele kleine Sedimentbröckchen in der Nähe der Bauöffnung.

Lumpenus lampretaeformis hingegen gräbt, indem er sich durch peitschenartige Bewegungen des Schwanzes mit seinem pfeilförmigen Kopf in das Sediment bohrt. Diese Aktivitätsphasen sind gekennzeichnet durch heftige, schnelle Bewegungen, die nur wenige Sekunden andauern. Es ist zu vermuten, daß in der Muskulatur die Energie hierfür anaerob über das Phosphagen oder eventuell durch die anaerobe Glykolyse bereitgestellt wird.

Nach dieser Grabphase verläßt der Fisch den Bau, schüttelt anhaftendes Sediment ab und reinigt die Kiemen durch einige heftige Atembewegungen, bei denen der Wasserstrom umgekehrt ist, das Wasser wird also aus dem Maul wieder herausgeblasen. In der Abb. 3b sind einige Sedimentbröckchen zu erkennen. Diese sind denen vergleichbar, die man bei Cepola rubescens und Lesueurigobius friesii findet, die mit dem Maul graben. Da ein derartiges Verhalten trotz vielstündiger Beobachtung nie festgestellt werden konnte, ist es jedoch unwahrscheinlich, daß Lumpenus mit dem Maul gräbt.

Die Beobachtungen von R. Nash (1980), daß Lumpenus lampretaeformis nur während der Nacht Grabaktivität zeigt, konnte nicht bestätigt werden. Zwar erfolgte ein wesentlicher Teil des Grabens während der Nacht, doch auch tagsüber konnten Aktivitätsphasen beobachtet werden.

Die Form der Bauten entspricht der eines Y, wie sie bereits von Nash (1980) beschrieben wurde. Der Bau ist mit bis zu 10 cm Tiefe ziemlich flach und der Form nach dem Bau von Lesueurigobius friesii vergleichbar, wenngleich die Abzweigungen im Bau von Lesueurigobius rechtwinklig sind. Cepola legt demgegenüber einen senkrechten Bau an, dessen Tiefe in etwa der Länge des Fisches entspricht (Atkinson et al., 1977).

Sowohl bei Beobachtungen im Biotop als auch bei Versuchen im Labor konnte in früheren Studien festgestellt werden, daß Verbindungen zwischen den Bauten verschiedener Arten bestehen können, und daß gelegentlich Teile bereits vorhandener Röhren oder Reste alter Bauten mit in einen neuen Bau ein-

bezogen werden (Rice und Chapman, 1971; Rice und Johnston, 1972; Atkinson, 1974; Atkinson et al.,1977; Atkinson et al., 1982; Able et al., 1982; Dworschak, 1983). Nash (1980) zeigte Verbindungen zwischen den Bauten von Lumpenus und Lesueurigobius sowie von Lumpenus und Cepola auf.

In der vorliegenden Studie wurden derartige zwischenartliche Verbindungen ausgeschlossen, da ausschließlich Lumpenus in den Aquarientank eingesetzt wurde. Innerartliche Verbindungen zwischen Bauten oder sogar Kooperation beim Anlegen von Bauten konnte für Goneplax (Atkinson, 1974) und für Maera (Atkinson et al., 1982) nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen eindeutig, daß auch bei Lumpenus Verbindungen zwischen den Bauten einzelner Tiere bestehen.

Die Ergebnisse der Ventilationsmessungen sowie die Beobachtungen während dieser Messungen machen jedoch deutlich, daß derartige Verbindungen bei der Ventilation des Baues keine große Bedeutung haben. Beim Einbringen von Wasser mit einem Blasebalg in eine Öffnung steigen Sedimentwolken aus ein bis zwei Öffnungen auf, was auf einen Bau mit zwei bis drei Öffnungen schließen läßt. Diese Tests ergaben nie, daß ein Bau mehr als vier Öffnungen besaß. Es muß daher angenommen werden, daß diese Verbindungen zufällig zustande kommen und nicht wieder verschlossen werden.

Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß Nash et al. (1984) an demselben Aquarientank Experimente mit Calocaris macandreae durchführten und keinerlei Verbindungen zwischen den einzelnen Bauten feststellen konnten. Offensichtlich werden bei dieser Species Verbindungen zwischen den einzelnen Bauten strikt vermieden.

1.2. Die Sauerstoffversorgung im Bau

Das Leben in einer Wohnröhre oder in einem Bau bedeutet sicherlich einen gewissen Schutz vor Feinden, es wirft aber auch Probleme auf. So sind die Tiere in ihrem Bau von Strömungen des Meereswassers weitgehend abgeschnitten. Daher versuchen diese Tiere aktiv eine Wasserzirkulation in ihren Bau zu erzeugen, um sich ständig oder zumindest periodisch mit frischem Wasser zu versorgen (Schäfer, 1962; Foster-

Smith, 1978).

Lumpenus lampretaeformis baut im Gegensatz zu Cepola keinen senkrechten Bau mit nur einer Öffnung, sondern einen sehr flachen, langgestreckten Bau mit 2 bzw. meistens 3 Öffnungen. Diese Bauform ermöglicht es, einen gerichteten Wasserstrom durch den Bau zu erzeugen. Beim Bau von Cepola ist dieses nicht möglich, da sowohl das einströmende als auch das ausströmende Wasser durch dieselbe Öffnung fließen muß.

Die Messungen zur Ventilation des Baues von Lumpenus ergaben eindeutig, daß ein gerichteter Wasserstrom durch den Bau vorhanden ist. Das Wasser strömt an der Kopföffnung in den Bau ein und an der Schwanzöffnung wieder heraus. Erzeugt wird dieser Strom durch periodisch auftretende undulierende Bewegungen des Schwanzes. Diese Bewegungen rufen keine Ortsveränderung des Tieres hervor. Da die Strömungsrichtung des Wassers nicht umgekehrt wird, braucht Lumpenus lampretaeformis wahrscheinlich weniger Energie für die Ventilationsbewegungen als ein Fisch, der das Wasser wieder in die Gegenrichtung beschleunigen muß.

Die durch die Operkularbewegungen hervorgerufene Wasserströmung ist vermutlich zu gering, um sie in einem Bau messen zu können. Weder mit dem Thermistor noch mit dem Strömungsmeßgerät waren Strömungen festzustellen, die mit der Frequenz der Operkularbewegungen ($56{,}8 \pm 6{,}4$ Schläge$\cdot min^{-1}$) korrelieren. Auch eine konstante Basisströmung war nicht feststellbar (vgl. Abb. 9). Eine derartige Basisströmung hätte bei einem Wechsel von der Einstromöffnung zur Ausstromöffnung desselben Baues bei den Schreiberaufzeichnungen einen Übergang von einer Registrierung mit negativem Vorzeichen zu einer mit positivem Vorzeichen führen müssen. Auch in den drei Fällen, in denen sich die Strömungsrichtung während der Aufzeichnungen änderte, blieb die Basislinie konstant.

Die Umkehr der Strömungsrichtung dürfte darauf zurückzuführen sein, daß der Fisch sich in dem Bau umgedreht hat. Experimente in Kunstbauten zeigten, daß die Tiere dazu tatsächlich in der Lage waren. In natürlichen Bauten können die Fische solche Kehrtwendungen sicher an den ausgeweiteten

Buchten oder an den Verzweigungsstellen durchführen.

Die Strömungsmessungen ergaben, daß 22,4% der Zeit (13,4 $min \cdot h^{-1}$) aufgewendet werden, um den Bau aktiv zu ventilieren. Hierbei können in den Aktivitätsphasen, die durchschnittlich 20,6 Sekunden andauern, Flußraten von maximal 90 $ml \cdot min^{-1}$ erreicht werden. Die mittlere Flußrate beträgt 2,68 $ml \cdot min^{-1}$, also 161 $ml \cdot h^{-1}$.

Der prozentuale Anteil der Ventilationsaktivität pro Zeiteinheit ist vergleichbar mit den Ergebnissen, die bei anderen grabenden Tieren - hierbei handelt es sich fast ausschließlich um Invertebraten - gewonnen werden konnten. Der Anteil beträgt bei Lumpenus 22,4%, bei dem decapoden Krebs Alpheus 27% (Gast und Harrison, 1981), bei Upogebia pusilla 28% (Dworschak, 1981), bei Nereis virens 41%, Nereis diversicolor 46% und Nereis succinea 23% (Kristensen, 1981).

Die Quantifizierungen des Ventilationsstromes im Bau von Crustaceen lassen eine sehr große Variabilität des Wasserstromes erkennen. So gibt Dworschak (1981) eine Wasserströmung von 5 - 900 $ml \cdot h^{-1}$ für Upogebia pusilla an. Koike und Mukai (1983) haben die Ventilation am Bau von Callianassa japonica und Upogebia major analysiert und berechnen auf der Basis von Po_2-Messungen einen Ventilationsstrom von 32 - 89 $ml \cdot h^{-1}$ für Callianassa japonica bzw. von 14 - 33 $ml \cdot h^{-1}$ für Upogebia major. Bei Alpheus mackayi, einem weiteren Vertreter der decapoden Krebse, wurde eine Ventilation von 350 $ml \cdot h^{-1}$ gemessen (Gast und Harrison, 1981). Foster-Smith (1978) bestimmte für Corophium volutator eine Ventilationsrate von etwa 70 $ml \cdot h^{-1}$.

Ein ähnlich variables Bild bietet die Bauventilation der Polychäten (Dales, 1961; Foster-Smith, 1978; Kristensen, 1981 und 1983; Barrow und Wells, 1982). Hier reichen die Werte von 9,1 $ml \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ für Neoamphitrite robusta (Dales, 1961) bis zu 631 $ml \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ für Nereis succinea (Kristensen, 1981). Für verschiedene Muscheln werden von Aller (1977, zitiert nach Koike und Mukai, 1983) Strömungsraten zwischen 100 und 1000 $ml \cdot h^{-1}$ pro Tier angegeben.

Zu beachten ist hierbei, daß die Angaben zum Teil auf ein

Tier bezogen sind, zum Teil aber auf eine Gewichtseinheit. Auch die Daten mit der gleichen Bezugsgröße variieren sehr stark, was vor allem bei den an Polychaeten gewonnenen Ergebnissen zu erkennen ist. In der vorliegenden Arbeit wurde als Bezugsgröße das Tier gewählt, da das Gewicht der Tiere in dem jeweiligen Bau nicht bestimmt werden konnte. Die Fische konnten erst nach Abschluß aller Messungen gefangen werden. Zu diesem Zeitpunkt war jedoch eine eindeutige Zuordnung eines Tieres zu einem bestimmten Bau nicht mehr möglich.

Mit einem experimentellen Ansatz, der dem in dieser Studie verwendeten ungefähr entspricht, wurde die Ventilation von am oder im Boden lebenden Schleimfischen und Plattfischen analysiert. Für den Schleimfisch Myxine glutinosa ergab sich bei 15°C eine Ventilationsrate von 102 $ml \cdot h^{-1}$ (Steffensen et al., 1984) sowie für die Flunder Platichthys flesus ein Strom von 88,6 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ (Kerstens et al., 1979). Bereits im Jahre 1935 konnte Helga Meyer den Ventilationsstrom von Uranoscopus scaber bestimmen. Die Ventilationsrate dieses Fisches betrug bei 15°C 354 $ml \cdot h^{-1}$ (Meyer, 1935).

Diese drei Wirbeltiere graben sich zwar in den Boden ein bzw. bedecken sich mit Sediment, sie legen aber keinen Bau an. In den soeben angeführten Studien wurde also nicht die Ventilation eines Baues gemessen, sondern vielmehr die Ventilation des Kiemenraumes. Zieht man dieses Ventilationsvolumen der Teleostier in Betracht, also die Wassermenge, die pro Minute durch den Kiemenraum fließt, so liegen die Werte zwischen 88,6 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ für die Flunder (Platichthys flesus) und 450 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ für den Goldfisch (Carassius auratus) (Johansen, 1982). Die in den Ventilationsexperimenten eingesetzten Lumpenus hatten ein Gewicht von etwa 15 Gramm. Der Ventilationsstrom, den diese Tiere im Bau erzeugten, betrug im Mittel 2,7 $ml \cdot min^{-1}$ bzw. 179 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$. Der gemessene Ventilationsstrom würde also ausreichen, um eine Ventilation des Kiemenraumes zu ermöglichen, die der anderer Fische vergleichbar ist.

Die Messungen des Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus ergaben an den Ausstromöffnungen zum Teil einen verringerten Sauer-

stoffpartialdruck, also eine Hypoxie. Der niedrigste gemessene Po_2-Wert lag bei 57,1 Torr. Auch in der terminalen Endkammer von Cepola konnten Pullin et al. (1980) mit Po_2-Werten um 40 Torr eine starke Hypoxie feststellen. Koike und Mukai (1983) geben für Callianassa japonica 20% Sauerstoffsättigung (ca. 30 Torr) im Bau und für Upogebia major 40% (ca. 60 Torr) an, und Congleton (1974) registrierte im Bau von Callianassa affinis Po_2-Werte von 0,5 - 3 Torr. Andererseits konnten Barrow und Wells (1982) während eines kompletten Ebbezyklus im Bau von Abarenicola affinis keine Po_2-Werte niedriger als 110 Torr registrieren.

Hypoxe Bedingungen sind folglich im Bau verschiedener Tiere zumindest zeitweise anzutreffen, und es ist zu vermuten, daß eine gewisse Schwelle für den Po_2 besteht, die nicht unterschritten werden soll. Diese Schwelle dürfte für Lumpenus bei etwa 55 - 60 Torr liegen. Der Fisch muß also in der Lage sein, entweder den Sauerstoffgehalt des Wassers oder aber die Sauerstoffbeladung des Blutes bzw. die Versorgung der Gewebe zu registrieren, um dann bei Sauerstoffmangel die Ventilationsaktivität entsprechend zu erhöhen.

Bei der Regulation der Atmungsaktivität von Fischen spielen Sauerstoffrezeptoren eine dominierende Rolle (Randall und Daxboeck, 1984). Es konnten bisher zwei verschiedene Sauerstoffrezeptoren analysiert werden, zum einen im Kiemenraum, vor allem auf dem ersten Kiemenbogen, und zum anderen efferent zu den Kiemen, vermutlich im zentralen Nervensystem (Holeton, 1977; Daxboeck und Holeton, 1978; Smith und Jones, 1978 und 1982; Nilsson, 1984).

Ein Bau in Form einer Röhre mit 2 Ausgängen bietet sich für die Erzeugung eines gerichteten Ventilationsstromes an, so daß der Bau als Durchflußrespirometer benutzt werden kann, wobei der Bewohner den Wasserstrom selbst verursacht. Auch Lumpenus lebt in einem röhrenförmigen Bau, und ein gerichteter Ventilationsstrom konnte nachgewiesen werden. Der Bau hat jedoch in Abweichung von dem idealen Fall für Messungen nicht zwei, sondern typischerweise drei Öffnungen. Zudem sind noch vielfache Verbindungen zwischen den einzelnen Bauten möglich.

Die Messungen des Po_2 und Pco_2 im Bau von Lumpenus ergaben vor allem an den Ausstromöffnungen charakteristische Schwankungen im Po_2. Der Pco_2 war dagegen sehr konstant, und auch die Unterschiede zwischen Ein- und Ausstromöffnung waren sehr gering, wenngleich der Pco_2 an der Ausfuhröffnung immer höher war als an der Einstromöffnung. Diese geringen Veränderungen im Pco_2 sind durch die hohe Kapazität des Seewassers für CO_2, bedingt durch die Bildung von Bikarbonat, zu erklären. Diese Bildung von Bikarbonat macht eine Berechnung der CO_2-Ausscheidung anhand von Messungen des Pco_2 im Wasser sehr ungenau. Daher wurde auf diese Auswertung verzichtet.

Der Sauerstoffpartialdruck des aus dem Bau ausströmenden Wassers schwankte zwischen 57,1 und 129,3 Torr, an den Einstromöffnungen wurden Po_2-Werte zwischen 100,8 und 149,3 Torr registriert. Die mittlere Abnahme des Po_2 zwischen Ein- und Ausstromöffnung entspricht einer Sauerstoffextraktion aus dem Ventilationswasser von 23,7%.

Teleostier extrahieren zwischen 30 und 80% des im Wasser gelösten Sauerstoffs in ihrem Kiemenraum, der Mittelwert liegt bei etwa 56% (Johansen, 1982). Vergleicht man dieses Ergebnis jedoch mit der Sauerstoffextraktion der Tiere aus dem Ventilationsstrom ihres Baues, so findet man durchaus vergleichbare Angaben. Kristensen (1981) beziffert die Sauerstoffextraktion für drei Nereisarten zwischen 10 und 20%, Gast und Harrison (1981) fanden 28% bei dem decapoden Krebs Alpheus mackayi, und Barrow und Wells (1982) geben für Abarenicola affinis eine Extraktionsrate von etwa 20% an. Dales (1961) bestimmt jedoch für drei Terebelliden eine höhere Extraktionsrate mit Werten zwischen 50 und 60%.

Legt man nun für Lumpenus in bezug auf die Sauerstoffextraktion im Kiemenraum die Ergebnisse zugrunde, die bei anderen Teleostiern gefunden wurden, so muß angenommen werden, daß die Wassermenge, die durch den Kiemenraum fließt, geringer ist als die, die durch den Bau fließt. Geht man von 50% Sauerstoffextraktion im Kiemenraum aus, so dürfte nur etwa die Hälfte der in den Bau einströmenden Wassermenge auch den Kiemenraum passieren.

Bei einem Gewicht der in den Ventilationsexperimenten eingesetzten Fische von etwa 15 Gramm ergibt sich somit ein Ventilationsstrom von 80 - 90 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$, ein Wert, der den Ergebnissen von Kerstens et al. (1979) an der Flunder vergleichbar ist. Dieser Wert liegt jedoch niedriger als der vieler anderer Fische (Johansen, 1982). Bemerkenswert ist in diesem Zusammenhang, daß die Fische in der Studie von Kerstens et al. (1979) nicht behindert oder eingeengt waren durch den experimentellen Aufbau, während in den anderen Studien mit angeklebten oder angehefteten Masken gearbeitet wurde, wie sie z. B. von Lomholt und Johansen (1979) beschrieben worden sind. Es ist nicht auszuschließen, daß derartige experimentelle Eingriffe auch Auswirkungen auf das Ventilationsverhalten der Fische haben und dadurch das Ventilationsvolumen überschätzt wird.

Im Verlauf der Experimente in Millport wurde an denselben Bauöffnungen sowohl Po_2 als auch der Ventilationsstrom bestimmt. Unter Anwendung der Fick'schen Gleichung

$$\dot{M}o_2 = V_w \cdot \alpha O_2 \cdot (P_I O_2 - P_E O_2)$$

läßt sich daraus der Sauerstoffverbrauch in dem jeweiligen Bau berechnen (Tabelle 22).

Diese Berechnungen ergeben einen Sauerstoffverbrauch von 5,9 - 17,6 $\mu mol \cdot h^{-1}$. Die Ergebnisse der Bestimmungen des Sauerstoffverbrauchs im Respirometer ergaben einen Verbrauch von 2,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$. Ein 7,5 Gramm schwerer Fisch würde demnach etwa 20 $\mu mol \cdot h^{-1}$ verbrauchen. Die im Bau bestimmten Werte sind damit etwas niedriger als die Werte, die mit dem Respirometer gewonnen wurden, wenngleich der Unterschied nicht sehr groß ist. Es ist anzunehmen, daß in einem Respirometer der Sauerstoffverbrauch überschätzt wird. Vor allem bei einem grabenden Tier ist mit gewisser Grabaktivität zu rechnen, die natürlich einen erhöhten Sauerstoffverbrauch zur Folge hat. So haben Potter und Rogers (1972) den Sauerstoffverbrauch von eingegrabenen und von nicht eingegrabenen Neunaugenlarven (Ammocoeten von Lampetra planeri) analysiert. Sie erhielten bei eingegrabenen Larven einen signifikant niedrigeren Sauerstoffverbrauch. Im Dunkeln war der Sauerstoffverbrauch der nicht eingegrabenen Tiere um etwa

40% höher als der Verbrauch der eingegrabenen Tiere, bei Licht betrug der Unterschied sogar 65%.

Tabelle 22
Sauerstoffverbrauch von Lumpenus im Bau, berechnet nach der Fick'schen Gleichung aus den Ergebnissen der Po_2-Messungen und der Ventilationsmessungen

Öffnung	ΔPo_2 (Torr)	O_2-Menge ($\mu mol \cdot l^{-1}$)	Fluß ($ml \cdot h^{-1}$)	$\dot{M}o_2$ ($\mu mol \cdot h^{-1}$)
13/16	50,5	82,3	214,2	17,6
			142,2	11,7
1/4	16,7	27,2	244,8	6,7
			215,4	5,9
3/15	24,5	39,9	150,6	6,0
13/16	34,9	56,9	173,4	9,9

Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß die Wasserströmung durch den Bau unterschätzt wurde. Die Bauten besitzen normal drei Öffnungen. Bei der Aufzeichnung an den Öffnungen der Bauten mit den Öffnungen 1 und 4 sowie 13 und 16 wird deutlich, daß der Wasserfluß an der einen Öffnung niedriger war als an der anderen. Daraus ist zu folgern, daß auch durch eine dritte Öffnung eine Wasserströmung erfolgte. Unter Berücksichtigung dieser Punkte ergibt sich also eine gute Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen, die mit dem Respirometer gewonnen wurden, und den Daten, die im künstlichen Biotop ermittelt wurden.

Messungen an einem unbewohnten Bau ergaben zwar keine Verringerung des Po_2, jedoch dürfte ein gewisser Sauerstoffverbrauch durch das Sediment wahrscheinlich sein (Bowman und Delfino, 1980; Koike und Mukai, 1983).

2. Ein atmungsphysiologischer Vergleich von Blennius und Lumpenus

2.1. Die respiratorischen Eigenschaften des Blutes

Obwohl in früheren Studien die respiratorischen Eigenschaften des Blutes von Felstümpelfischen und von grabenden Fischen bereits untersucht worden waren (Daniel, 1971; Pullin et al, 1980; Bridges et al., 1982; Bridges et al., 1984), sind die respiratorischen Anpassungen dieser Fischarten an das Biotop jedoch noch keineswegs vollständig geklärt. In einer vergleichenden Analyse schon publizierter und eigener Ergebnisse soll versucht werden, bei Felstümpelfischen und grabenden Fischen ähnliche Anpassungsmechanismen aufzuzeigen. Gleichzeitig soll aber auch untersucht werden, ob es bei diesen Arten biotopbedingte Spezialanpassungen gibt.

a) Sauerstoffaffinität

Die Affinität des Hämoglobins von Blennius zum Sauerstoff ist mit einem P_{50} von 8,8 Torr bei einem pH-Wert von 7,8 (12,5°C) sehr hoch. Dieser Wert entspricht den Ergebnissen von Daniel (1971) und von Bridges et al. (1984). Auch bei anderen Felstümpelfischen wie z. B. Fundulus heteroclitus (Powers, 1980), Acanthocottus bubalis (Kirchhof, 1983) und Gobius paganellus (Pelster, unveröffentlicht) wurden ähnlich hohe Sauerstoffaffinitäten mit P_{50}-Werten von unter 10 Torr bei einem pH-Wert von 7,8 - 8,0 (10°C bzw. 12,5°C) gefunden. Derart hohe Sauerstoffaffinitäten findet man ebenfalls bei einigen Süßwasserfischen wie z. B. dem Karpfen (Weber und Lykkeboe, 1978) und der Schleie (Jensen und Weber, 1982). Die Fähigkeit dieser beiden Fische, in stehenden, schlecht belüfteten Gewässern zu überleben, ist weithin bekannt.

In einigen umfangreichen Studien, die unter anderem mit mehreren Amazonasfischen durchgeführt worden sind (Powers et al., 1979), konnte gezeigt werden, daß die Sauerstoffaffinität mit dem Biotop, in dem die Fische leben, korreliert. Das Hämoglobin von Fischen in stehenden oder langsam fließenden Gewässern mit wechselndem Sauerstoffangebot besitzt eine deutlich höhere Sauerstoffaffinität als das Hämoglobin

von Fischen, die in fließenden, sauerstoffreichen Gewässern beheimatet sind (Krogh und Leitch, 1919; Powers et al., 1979; Riggs, 1979; Powers, 1980; Val et al., 1985). Zu bedenken ist hierbei jedoch, daß die Messungen von Powers et al. (1979) zwar bei konstantem Pco_2, aber nicht bei konstantem pH-Wert erfolgt sind und der pH-Wert einen großen Einfluß auf die Affinität ausübt. Außerdem ist die Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff von der Konzentration an organischen Phosphaten abhängig. Die Vielzahl der Beispiele für eine Beziehung von P_{50} und Sauerstoffangebot im Biotop erlaubt jedoch den Versuch, eine entsprechende Korrelation auch bei Blennius und Lumpenus aufzustellen.

Aufgrund der hohen Sauerstoffaffinität wäre also zu erwarten, daß Blennius in einem Biotop mit zum Teil hypoxen Umweltbedingungen lebt. Wie die Arbeiten von Truchot und Duhamel-Jouve (1980), Morris und Taylor (1983) und Bridges et al. (1984) gezeigt haben, können in Felstümpeln durchaus Po_2-Werte von 20 Torr auftreten. Die hohe Sauerstoffaffinität des Hämoglobins von Blennius kann folglich als eine gute Anpassung an die zeitweise hypoxen Bedingungen im Biotop interpretiert werden.

Das Blut von Lumpenus hat bei einem pH-Wert von 7,8 einen P_{50} von 20 Torr (15°C). Lumpenus wäre demnach in die Gruppe der Fische einzuordnen, die in gut belüftetem, sauerstoffreichem Wasser leben. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen gehört auch Cepola rubescens, ein grabender Fisch, der ebenfalls vor den Küsten Schottlands zu finden ist, in diese Gruppe. Bridges et al. (1982) geben für Cepola einen P_{50} von 27 Torr bei einem pH-Wert von 7,56 an (15°C). Dieses Ergebnis war bei Lumpenus nicht zu erwarten, da in seinem Bau Po_2-Werte von 60 Torr gemessen werden konnten. Wenn die Korrelation von Sauerstoffaffinität und Biotop auch bei Lumpenus zutrifft, muß also zunächst angenommen werden, daß ein Po_2 von 60 Torr für Lumpenus noch keinen echten Sauerstoffmangel bedeutet. Die Bestimmung des Sauerstoffverbrauches in Abhängigkeit vom Po_2 kann hier weitere Informationen liefern.

Auch bei manchen bodenlebenden Plattfischen, die sich jedoch

nicht eingraben, sondern auf dem Boden liegen bzw. sich leicht mit Sediment bedecken, hat das Blut eine vergleichsweise niedrige Sauerstoffaffinität. Am Beispiel der Scholle und der Flunder läßt sich die Korrelation von Sauerstoffaffinität und Lebensweise bzw. Biotop veranschaulichen. Die Flunder verläßt im Gegensatz zur Scholle im Sommer das Benthos der offenen See und dringt in die Wattzonen bzw. die wattnahen Zonen der Küstengewässer vor. In den flachen Küstengewässern ist die Flunder einem wesentlich stärkeren Wechsel der physikochemischen Bedingungen unterworfen, und es können durchaus O_2-Mangelbedingungen auftreten. Ein Vergleich der respiratorischen Eigenschaften des Blutes dieser beiden Plattfische zeigt, daß das Flunderblut eine um etwa 5 Torr höhere Sauerstoffaffinität besitzt als das Blut der Scholle (Weber und DeWilde, 1975).

b) Bohr-Effekt

Die Sauerstoffaffintät ist, wie bereits ausgeführt, von verschiedenen Faktoren abhängig. Der Bohr-Effekt ist ein Maß für die Abhängigkeit der Sauerstoffaffinität vom pH-Wert. Auch beim Bohr-Effekt wird versucht, ihn mit einem bestimmten Biotop zu korrelieren, und so wird ein niedriger Bohr-Effekt mit hypoxen Lebensbedingungen und vor allem mit der häufig mit Hypoxie einhergehenden Hypercapnie in Verbindung gebracht (Willmer, 1934; Eddy und Morgan, 1969). Es kann jedoch höchstens von einer Tendenz gesprochen werden, daß bei Hypoxie der Bohr-Effekt reduziert ist, da dieser noch von verschiedenen anderen Faktoren abhängig ist, deren gemeinsamer Einfluß sehr schwer abzuschätzen ist. So spielen z. B. die Temperatur, die Konzentration der organischen Phosphate, der Säure-Basen-Haushalt und die Art des Gasaustausches eine wichtige Rolle. Luftatmende Fische zeigen oft einen höheren Bohr-Effekt als Fische, die nicht die Fähigkeit zur Luftatmung haben (Johansen und Weber, 1976). Es soll daher hier nicht versucht werden, die Größe des Bohr-Effektes mit einem bestimmten Biotop in Zusammenhang zu bringen.

Für Blennius pholis wurde ein Bohr-Effekt von $\Delta \log P_{50}$

$\Delta pH^{-1} = -0,66$ ermittelt, ein Wert, der in Einklang steht mit den Ergebnissen der bisherigen Arbeiten (Daniel, 1971; Bridges et al., 1984). Der Bohr-Effekt für Lumpenus beträgt $\varphi = -0,70$.

Bei numerischer Übereinstimmung von respiratorischem Quotient und Bohr-Effekt ist gemäß den Überlegungen von Lapennas (1983) bei rein aerobem Stoffwechsel nur eine geringe arterio-venöse pH-Verschiebung und damit eine geringe Veränderung der Sauerstoffaffinität zu erwarten. Das in den Kapillaren der Gewebe aufgenommene CO_2 wird vorwiegend als Bikarbonat im Blut transportiert und die bei der CO_2-Hydratation freigesetzten Protonen können vom Hämoglobin gebunden werden, so daß sich nur geringe pH-Verschiebungen bei der Passage des Blutes in den Kapillaren ergeben. Sowohl bei Lumpenus als auch bei Blennius stimmen der RQ und der Bohr-Effekt numerisch in etwa überein. Bei rein aerobem Stoffwechsel sind daher keine großen arterio-venösen pH-Differenzen zu erwarten. Eine Karbamatbildung im Blut sowie Veränderungen der organischen Phosphatkonzentrationen in den Kapillaren können jedoch die pH-Differenz verändern.

Im anaeroben Stoffwechsel produzierte Protonen können dann jedoch nicht mehr vom Hämoglobin gebunden werden und beeinflussen somit über den pH-Wert die Sauerstoffaffinität. Das Ausmaß der pH-Verschiebung ist wiederum abhängig von der Pufferkapazität des Blutes, die bei beiden Species mit Werten zwischen 4 und 6 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ (für Blennius vgl. Bridges, in Vorbereitung) niedrig ist. Eine geringe Pufferkapazität im Blut erlaubt eine pH-Verschiebung bereits durch geringe Protonenmengen, und die Erniedrigung der Sauerstoffaffinität durch den Bohr-Effekt wird in der beschleunigten Abgabe von Sauerstoff im Gewebe wirksam. Die bei beiden Species nachgewiesene Kombination von hohem Bohr-Effekt und niedriger Pufferkapazität ermöglicht also eine hohe Flexibilität bei der Regulation der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins und damit bei der Sauerstoffversorgung der Tiere.

Derart niedrige Pufferkapazitäten im Blut mit Werten zwischen 5 und 10 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ können für Fische als typisch

angesehen werden (Albers, 1970; Heisler, 1984). Ein Grund für die geringe Pufferkapazität sind die meist niedrigen Hämatokrit-Werte (ca. 15 - 30 Vol%) und die geringen Hämoglobinkonzentrationen der Fische. Auch bei Lumpenus und Blennius sind entsprechende Werte gefunden worden.

c) Root-Effekt

Eine atmungsphysiologische Besonderheit der Fische stellt der Root-Effekt dar. Er beinhaltet eine vom pH-Wert abhängige Minderung der Sauerstoffkapazität und ist daher streng zu trennen vom Bohr-Effekt, der eine vom pH-Wert abhängige Änderung der Sauerstoffaffinität beschreibt. Der Root-Effekt der Fische ist ein wichtiger Mechanismus bei der Füllung der Schwimmblase (Steen, 1963; Berg und Steen, 1968, Fänge, 1983). Wittenberg und Wittenberg (1974) diskutieren zudem die Beteiligung an der Sauerstoffversorgung des Auges über ein Rete mirabile in der Chorioidea. Farmer et al. (1979), Ingerman und Terwilliger (1982) und Ingerman (1982) konnten den Root-Effekt mit der Präsenz einer gefäßreichen Chorioidea im Auge korrelieren. Sie vermuten, daß dieses Rete das phylogenetisch ursprünglichere darstellt und somit in Verbindung mit einem lokalisiert hohen Sauerstoffbedarf entstanden ist.

Bridges et al. (1984) konnten bei Blennius pholis im physiologischen pH-Bereich einen Root-Effekt nicht nachweisen. Bei Lumpenus ist ein geringer Root-Effekt mit einer Kapazitätsminderung von etwa 20% bei pH 7,0 vorhanden. Dieser geringe Root-Effekt bzw. seine Abwesenheit steht in Einklang mit einer fehlenden Schwimmblase bei beiden Species. Da Lumpenus in einem waagerechten, sehr engen Bau und Blennius immer nahe der Wasseroberfläche lebt, ist offensichtlich ein spezielles Organ für den hydrostatischen Druckausgleich nicht erforderlich. Über die Ausgestaltung der Chorioidea des Auges liegen derzeit keine Informationen vor. Die Augen von Lumpenus sind jedoch im Vergleich zu denen von Blennius deutlich größer, so daß der geringe Root-Effekt eventuell bei der Versorgung des Auges mit Sauerstoff von Bedeutung ist.

Lumpenus unterscheidet sich bezüglich des Root-Effektes sehr von Cepola. Bei diesem Fisch ist der Root-Effekt stark ausgeprägt mit einer Sauerstoffkapazitätsminderung von etwa 45% bei pH 7,2 (Bridges et al., 1982). Cepola hat im Gegensatz zu Lumpenus eine Schwimmblase und kann in seiner senkrechten Wohnröhre ohne Schwimmbewegungen längere Zeit aufrecht schweben (Atkinson et al., 1977). Der Schwimmblase kommt eine besondere Bedeutung für die Erstellung der Schwebedichte zu. Ein ausgeprägter Root-Effekt kann die dafür notwendige Gasaufnahme in der Schwimmblase ermöglichen.

2.2. Die Pufferkapazität

Ein wesentlicher Faktor im Säure-Basen-Haushalt eines Gewebes ist die Pufferkapazität, die für einen weitgehend konstanten pH-Wert des Gewebes verantwortlich ist. Ein konstanter pH-Wert bzw. seine kontrollierte Veränderung in bestimmten Situationen sind von großer Bedeutung für die Aktivität von Enzymen des Stoffwechsels und damit für die Regulation des Stoffwechsels (Somero, 1981).

Bikarbonat, Phosphate, Proteine und eventuell vorhandene Dipeptide sind die wesentlichen Determinanten der Pufferkapazität eines Gewebes (Burton, 1978). Mit Hilfe einer CO_2-Titration eines Gewebehomogenates, wie sie in der vorliegenden Arbeit angewendet wurde, läßt sich die Pufferkapazität des Nicht-Bikarbonat-Puffers bestimmen. Dieser Pufferwert ist im Blut von Fischen mit Werten von etwa 5 - 10 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ sehr niedrig (Albers, 1970; Heisler, 1984). Die die Werte für Blennius mit 5,96 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ für oxygeniertes und desoxygeniertes Blut (Bridges, in Vorbereitung) sowie für Lumpenus mit 5,04 bzw. 4,89 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ für oxygeniertes und desoxygeniertes Blut stimmen hiermit überein. Die niedrigen Pufferwerte im Blut der Fische sind im Zusammenhang mit der Fähigkeit dieser Tiere zu sehen, das umgebende Wasser mit in die Regulation des Säure-Basen-Haushaltes einzubeziehen. Durch Ionenaustauschprozesse sind sie in der Lage, bei starker Säurebelastung Protonen ins umgebende Wasser abzugeben und bei einer Alkalose Protonen wieder aufzunehmen (Cameron, 1978a; Heisler 1980; 1982a und

1984).*

Aufgrund dieser Art der Regulation des Säure-Basen-Haushaltes ist eine hohe Pufferkapazität im Blut nicht erforderlich. Das Muskelgewebe der Fische zeichnet sich demgegenüber durch hohe Pufferkapazitäten aus. Insbesondere die weiße Muskulatur von sehr aktiven Fischen, die eine im Vergleich zur Umgebung höhere Körpertemperatur haben, also z. B. von Thunfischen, hat Pufferwerte von über 100 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ (Castellini und Somero, 1981).

Diese Autoren teilen die Fische weiterhin ein in Tiefseefische und Fische, die auf ihre Beute warten und sie dann schnappen, sowie in pelagisch lebende, aktive Fische. Die aktiveren Schwimmer besitzen mit 60 - 70 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ eine um etwa 20 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ höhere Pufferkapazität als die am Boden lebenden Formen.

Sowohl Blennius mit einem Pufferwert von β = 41,8 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ (Bridges, in Vorbereitung) als auch Lumpenus mit β = 43,1 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ gehören gemäß der Pufferkapazität des Muskelgewebes und auch entsprechend ihrem Verhalten zur letztgenannten Gruppe. Cepola rubescens mit β = 47,8 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ (Bridges et al., in Vorbereitung) sowie der Felstümpelfisch Acanthocottus bubalis mit β = 41,0 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$ (Kirchhof, 1983) sind ebenfalls hier einzuordnen. Die Höhe der Pufferkapazität steht somit nach Castellini und Somero (1981) in Beziehung zur Lebensweise und hier besonders zur Fähigkeit, kurzzeitig hohe Muskelaktivitäten vollbringen zu können. Die Autoren korrelieren dementsprechend die Pufferkapazität mit der Aktivität des Enzyms Laktatdehydrogenase. Eine Korrelation zwischen Pufferkapazität und der Aktivität der Laktatdehydrogenase bzw. entsprechender Opindehydrogenasen ist auch für Invertebraten nachgewiesen worden (Morris und Baldwin, 1984).

Sowohl Blennius als auch Lumpenus sind nach eigenen Beobachtungen im Aquarium keine guten Schwimmer, sondern beide

*Zu beachten ist hierbei, daß eine Protonenabgabe gleichzusetzen ist mit einer Bikarbonataufnahme, die denselben Effekt erzielt, und daß derzeit eine Unterscheidung zwischen diesen beiden Prozessen nicht möglich ist.

sitzen am Boden und schwimmen nur kurze Strecken, um sich dann sofort wieder am Boden niederzulassen. Große Belastungen für den Säure-Basen-Haushalt sind daher aufgrund hoher Muskelaktivität kaum zu erwarten. Bei der kurzzeitigen Aktivität von Lumpenus beim Graben wird offensichtlich nicht soviel Milchsäure produziert, daß eine Belastung für den Säure-Basen-Haushalt der Muskulatur entsteht, die eine höhere Pufferkapazität der Muskulatur erforderlich machen würde.

2.3. Gasaustausch unter Ruhebedingungen

Die Stoffwechselrate unter Ruhebedingungen (SMR = standard metabolic rate) ist durch die Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs zu erfassen. Der O_2-Verbrauch kann jedoch durch viele Faktoren beeinflußt werden, so z. B. durch Temperatur, endogene Rhythmik, Aktivität und Störungen von außen (Beunruhigung). Die Messung des Sauerstoffverbrauchs erfordert daher größte Sorgfalt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit machen deutlich, daß der Sauerstoffverbrauch der Versuchstiere in der ersten Zeit nach Versuchsbeginn zusehends geringer wurde, und daß erst nach einigen Stunden ein weitgehend konstanter Verbrauch registriert werden konnte (Abb. 28). Für die Auswertung wurden daher nur die Ergebnisse dieser Phase berücksichtigt.

Für Blennius pholis ergibt sich hierbei ein Sauerstoffverbrauch von 1,73 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$, ein Wert, der mit den Ergebnissen früherer Publikationen übereinstimmt (Daniel, 1971; Campbell und Spencer Davies, 1975; Davenport und Vahl, 1979; Laming et al., 1982). Lediglich die Ergebnisse von Milton (1971) sowie von Houlihan und Morrison (1982) liegen mit 4,46 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ (40g Fisch, 16°C) bzw. 3,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ (15°C) deutlich höher.

Der Sauerstoffverbrauch von Lumpenus lampretaeformis ist mit 2,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ um 1 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ höher als der von Blennius. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß Lumpenus kleiner ist als Blennius. Entsprechend der allgemeinen Beziehung zwischen dem relativen Sauerstoffverbrauch und der Körpermasse (Dejours, 1981), ist ein höherer O_2-Verbrauch für Lumpenus zu erwarten. Auch die geringfügig höhere Ver-

Tabelle 23
$\dot{M}o_2$ verschiedener Teleostier

Species	Temperatur	$\dot{M}o_2$	Quelle
Salmo gairdneri	10°C	1,86 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Ott et al., 1980
Salmo gairdneri	15°C	2,69 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Ott et al., 1980
Salmo gairdneri	13,5°C	1,72 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Hughes u. Saunders, 1970
Salmo gairdneri	12°C	2,38 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Cameron u. Davies, 1970
Salmo gairdneri	12°C	3,00 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Marvin u. Heath, 1968
Salom gairdneri	15°C	3,75 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Holeton u. Randall, 1967
Cyprinus carpio	10°C	0,96 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Ott et al., 1980
Cyprinus carpio	15°C	1,67 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Ott et al., 1980
Cyprinus carpio	10°C	1,43 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Hughes et al., 1983
Cyprinus carpio	--	2,14 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Lomholt u. Johansen, 1979
Tinca tinca	11-14°C	1,50 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Eddy, 1974
Platichthys stellatus	9-11°C	1,21 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Watters u. Smith, 1973
Platichthys stellatus	10°C	1,23 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Wood et al., 1979
Platichthys flesus	8-10°C	1,20 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Kerstens et al., 1979
Carassius auratus	25°C	3,35 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Dejours et al., 1968
Sarotherodon niloticus	25°C	2,91 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Verheyen et al., 1985
Chaenocephalus aceratus	1°C	0,89 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Hemmingsen u. Douglas, 1970
Misgurnus fossilis	10°C	0,60 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Jeuken, 1957
Misgurnus fossilis	15°C	1,62 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$	Jeuken, 1957

Ophiodon elongatus	9-11°C	1,02 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Farrell u. Daxboeck, 1981
Xiphister artropurpureus	11-13°C	1,20 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Daxboeck u. Heming, 1982
Clinocottus analis	15°C	3,71 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Congleton, 1980
Paraclinus integripinnis	15°C	3,75 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Congleton, 1980
Gibbonsia elegans	15°C	4,55 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Congleton, 1980
Blennius pholis	15°C (25g)	1,32 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Daniel, 1971
Blennius pholis	16°C	4,46 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Milton, 1971
Blennius pholis	10°C	2,68 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Campbell u. Spencer Davies, 1975
Blennius pholis	10°C	1,56 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Davenport u. Vahl, 1979
Blennius pholis	15°C	3,68 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Houlihan u. Morris, 1982
Blennius pholis	10°C	1,25 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Laming et al., 1982
Blennius pholis	12,5°C	1,73 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Eigene Ergebnisse
Lumpenus lampretaeformis	15,0°C	2.66 µmol·g^{-1}·h^{-1}	Eigene Ergebnisse

suchstemperatur ist bei einem mittleren Q_{10} von 2,6 für den Sauerstoffverbrauch (Dejours, 1981) zu beachten. Ein Literaturvergleich zeigt, daß der Sauerstoffverbrauch von Blennius und Lumpenus dem anderer Fische durchaus entspricht (Tabelle 23).

Eine generalisierende Aussage im Hinblick auf eine Korrelation zwischen Biotop bzw. Lebensweise und Sauerstoffverbrauch ist, wie die Tabelle 23 zeigt, nicht möglich, wenngleich der O_2-Verbrauch der freischwimmenden, aktiven Forelle höher ist als z. B. der Verbrauch der vergleichsweise inaktiven, bodenlebenden Plattfische. Die Ergebnisse der einzelnen Autoren weichen jedoch sehr stark voneinander ab, was sicherlich auch als Indiz für die Problematik der Sauerstoffverbrauchsmessungen gewertet werden kann.

Bei der Bestimmung der CO_2-Ausscheidung der Fische ergibt sich neben den oben angeführten Schwierigkeiten noch ein meßtechnisches Problem: Aufgrund der Bildung von Bikarbonat aus CO_2 und H_2O ist eine Bestimmung des totalen CO_2-Gehaltes (Cco_2) erforderlich, Pco_2-Messungen allein reichen nicht aus. Mit der Methode nach Cameron (1971), die auch in der vorliegenden Studie zur Anwendung kam, läßt sich eine Meßgenauigkeit von $\pm$ 2,5% erzielen ($\triangleq$ 0,05 mM bei einer Bikarbonatkonzentration von 2 mM im Seewasser). Bei einem respiratorischen Quotienten von 1,0 entspricht eine derartige Erhöhung des CO_2-Gehaltes bereits einer Verringerung des Po_2 um etwa 30 Torr. Die Analysen des CO_2-Gehaltes bewegen sich also immer am Rande der Meßgrenze, um mit dem Sauerstoffpartialdruck nicht in den Bereich der Hypoxie zu gelangen. Methoden mit einer größeren Auflösung (Capnicon - Methode, Δ - Bikarbonat System) beinhalten einen großen apparativen Aufwand und standen nicht zur Verfügung (zur Methodik vgl. auch Heisler, 1984).

Der respiratorische Quotient (RQ) beträgt für Lumpenus 0,82 $\pm$ 0,07 sowie für Blennius 0,86 $\pm$ 0,09. Ähnliche Werte sind auch für verschiedene andere Fische bestimmt worden (Tab. 24). Van den Thillart und Kesbeke (1978) haben ausgeführt, daß bei reiner Proteinverwertung ein respiratorischer Quotient von 0,97 zu erwarten wäre, ein Wert also, der fast

Tabelle 24
Respiratorischer Quotient verschiedener Teleostier

Species	RQ	Temperatur	Quelle
Platichthys stellatus	1	7,5 - 10,5°C	Wood et al., 1979
Tilapia mossambica	0,76	25°C	Van den Thillart u. Overbeek, 1984
Tinca tinca	0,78	20°C	Van den Thillart u. Overbeek, 1984
Carassius auratus	0,79	20°C	Van den Thillart u. Overbeek, 1984
Oncorhychus kisutch	0,69	10-12°C	Van den Thillart et al., 1983
Anabas testudineus	1,17	25°C	Hughes u. Singh, 1970
Xiphister artropurpureus	1,09	11-13°C	Daxboeck u. Heming, 1982
Channa argus	0,90	25°C	Itazawa u. Ishimatsu, 1981
Amia calva	0,91	30°C	Randall et al., 1981b
Protopterus aethiopicus	0,76	20°C	Lenfant u. Johansen, 1968
Trichogaster trichopterus	0,88	27°C	Burggren u, Haswell, 1979
Carassius auratus	0,80	20°C	Van den Thillart u. Kesbeke, 1978
Blennius pholis	0,86	12,5°C	Eigene Ergebnisse
Lumpenus lampretaeformis	0,82	14,0°C	Eigene Ergebnisse

identisch ist mit dem RQ für Kohlenhydratstoffwechsel (RQ = 1,0).

Die RQ - Werte von Blennius und Lumpenus weisen somit darauf hin, daß sowohl Fette als auch Proteine verbrannt werden, wobei bei Lumpenus möglicherweise der Fettanteil geringfügig überwiegt. Da Blennius zumindest überwiegend und Lumpenus beinahe ausschließlich carnivor ist, stimmen diese Meßergebnisse sehr gut mit den theoretisch zu erwartenden Ergebnissen überein.

2.4. Sauerstoffaufnahme unter Sauerstoffmangelbedingungen

Bei der Untersuchung des Gasaustausches unter Ruhebedingungen war das Inkubationswasser immer gut belüftet, das bedeutet, es war sauerstoffgesättigt. Die Beobachtungen in den Felstümpeln der Gezeitenzone sowie im Bau von grabenden Tieren haben jedoch gezeigt, daß das Sauerstoffangebot sehr variabel sein kann. In beiden Biotopen konnte zeitweilig eine Hypoxie registriert werden. Der Sauerstoff spielt als terminaler Elektronenakzeptor eine wesentliche Rolle im Stoffwechsel. Es erscheint daher nahezu zwangsläufig, daß die Tiere, die derartigen Sauerstoffmangelbedingungen unterworfen sind, versuchen, den Sauerstoffmangel zu kompensieren.

Dementsprechend konnten in den letzten Jahren bei Fischen eine Reihe von physiologischen Anpassungsmechanismen an hypoxe Umweltbedingungen nachgewiesen werden (Hughes, 1973; Randall, 1982; Randall et al., 1982; Weber, 1982), die im folgenden zusammenfassend dargestellt sind.

Viele Fische können bei Hypoxie zunächst ihre Sauerstoffaufnahme relativ konstant halten, indem sie die Ventilationsfrequenz und das Schlagvolumen steigern. Auch das Herz - Minuten - Volumen bleibt konstant, da die leichte Bradykardie durch ein erhöhtes Schlagvolumen ausgeglichen wird. Entsprechend der Hyperventilation sinkt der Pco_2 im Blut, was zu einer Alkalose führt. Bei stärkerer Hypoxie kann schließlich nicht mehr genügend Sauerstoff aufgenommen werden, und es kommt zur Milchsäureproduktion mit einer entsprechenden Acidose.

Nach einigen Stunden der Hypoxie ist eine zunehmende Sauerstoffkapazität festzustellen, bedingt durch die Freisetzung von Erythrozyten, sowie eine Erhöhung der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins. Letzteres ist zu erklären aus der Konzentrationsabnahme der organischen Phosphatverbindungen (ATP und GTP bei Fischen), die an das Hämoglobin binden und dadurch die Sauerstoffaffinität vermindern. Fische regulieren bei Hypoxie die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins genau entgegengesetzt zum Menschen, bei dem bei der Höhenanpassung, die einer Hypoxie vergleichbar ist, eine Zunahme des organischen Phosphates (2,3-DPG) zu verzeichnen ist (Lenfant, 1973). Diese entgegengesetzten Strategien sind möglicherweise durch den unterschiedlichen Sauerstoffgehalt der beiden Atemmedien zu erklären. Der Mensch lebt in einer normal sauerstoffreichen Umgebung und begünstigt bei Sauerstoffmangel die Versorgung der Gewebe mit Sauerstoff durch Verringerung der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins. Eine niedrigere Affinität führt bereits bei höheren Partialdrükken zur Entladung des Atempigments. Im Wasser ist nur etwa 1/30 der Menge an Sauerstoff gelöst, die in der Luft vorhanden ist. So ist eventuell für den Fisch zunächst entscheidend, diesen Sauerstoff überhaupt aufzunehmen. Daher wird die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins durch einen Phosphatabbau erhöht. Die Erhöhung der Sauerstoffaffinität hat aber eine Verringerung des Diffusionsgradienten im Gewebe zur Folge, da das Hämoglobin erst bei niedrigeren Po_2-Werten den Sauerstoff wieder abgibt. Im Gewebe könnte jedoch der Phosphateffekt ausgeglichen werden, um den Po_2-Gradienten zwischen den Kapillaren und den Zellen im Gewebe nicht zu gering werden zu lassen. Möglich wäre eine Einflußnahme über den Bohr-Effekt, indem vom Gewebe Protonen ins Blut abgegeben werden.

In bezug auf die Sauerstoffaufnahme bei fortschreitender Hypoxie unterscheidet man zwischen Konformern - der Sauerstoffverbrauch sinkt mit fallenden Po_2 - und Regulatoren - der Sauerstoffverbrauch bleibt zunächst konstant, erst unterhalb eines kritischen Po_2 sinkt er stark ab (Prosser, 1973; Dejours, 1981). Diese Unterscheidung geht im wesentlichen auf Ergebnisse zurück, die an Invertebraten gewonnen

wurden, sie wird aber auch auf die Vertebraten angewandt (Gatz et al., 1974; Randall und Daxboeck, 1984).

Die sinnvolle Anwendbarkeit der strikt dichotomen Einteilung wird von Ultsch et al. (1981) in Frage gestellt: "We thought that there was no a priori reason why any vertebrate with a significant amount of functional respiratory pigment and a reasonable matching of ventilation and perfusion at the gas exchange surface should not be able to regulate its SMR over an appreciable range of Po_2 extending downward from atmospheric levels."

Die Autoren untersuchten den Sauerstoffverbrauch von Opsanus tau, einem typischen Konformer (Hall, 1929), und fanden, daß der Fisch sehr wohl in der Lage war, seinen Sauerstoffverbrauch zu regulieren. Die Untersuchungen von Hughes et al. (1983) am Karpfen machen in diesem Zusammenhang noch einmal deutlich, daß der Verlauf der Sauerstoffverbrauchskurve bei progressiver Hypoxie nicht nur vom Po_2, sondern auch von anderen Faktoren, wie z. B. der Temperatur, abhängig ist. Während die Kurve bei 20°C der eines Regulators mit ausgeprägtem kritischen Punkt entspricht, gleicht sie bei 10°C der eines Konformers. In diesem Punkt widersprechen die Ergebnisse jedoch denen von Ott et al. (1980). Nach diesen Autoren ist der Karpfen bei Temperaturen zwischen 5°C und 25°C ein strikter Regulator.

Die Problematik des Sauerstoffverbrauchs bei Hypoxie ist nun mit der Diskussion über Konformer oder Regulator noch keineswegs umfassend beschrieben. Damit die Sauerstoffaufnahme bei fallendem Po_2 nicht absinkt, verstärken die Fische die Ventilation, was durch die höhere Muskelaktivität einen erhöhten Energieverbrauch zur Folge hat. Sofern die Energie nicht an anderer Stelle im Organismus eingespart werden kann, ist mit einem erhöhten Sauerstoffverbrauch zu rechnen. Der Sauerstoffverbrauch bleibt also nicht konstant, sondern er müßte sogar trotz Hypoxie ansteigen. Am kritischen Punkt ist diese Muskelarbeit nicht mehr mit dem verfügbaren Sauerstoff in Einklang zu bringen. Die Ventilation wird gedrosselt, der Sauerstoffverbrauch sinkt stark ab.

Ein erhöhter Sauerstoffbedarf bei Hypoxie wurde von Hughes und Saunders (1970) an der Forelle (Salmo gairdneri) nachgewiesen. Der Sauerstoffverbrauch unter Hypoxie von 70 Torr war mit 125 $mg \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ fast doppelt so hoch wie unter Normoxie. Ott et al. (1980) fanden bei der Forelle ebenfalls eine Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs vor allem vor Erreichen des kritischen Punktes. Eine derartig hohe Steigerung, wie sie von Hughes und Saunders (1970) angegeben wird, konnten sie jedoch nicht bestätigen. Aufgrund dieser Ergebnisse scheint es in der Tat nicht sehr sinnvoll, die dichotome Einteilung in Konformer und Regulator bei den Fischen strikt in Anwendung zu bringen.

Der Sauerstoffverbrauch von Blennius und Lumpenus bleibt bei fortschreitender Hypoxie zunächst konstant. Bei Lumpenus scheint bei 100 - 110 Torr Po_2 eine leichte Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs erkennbar. Unterhalb von 60 Torr nimmt der Sauerstoffverbrauch jedoch deutlich ab, wenngleich noch nicht von einem scharfen Abknicken gesprochen werden kann. Andererseits war Lumpenus jedoch nicht in der Lage, bei einem Po_2 von 25 Torr für einige Stunden zu überleben. Hieraus ist zu erkennen, daß der kritische Bereich, in dem der Sauerstoffverbrauch stark abfällt und der anaerobe Stoffwechsel eine dominierende Rolle spielt, bei 40 - 50 Torr Po_2 liegt. Die Hypoxietoleranz von Typhlogobius californiensis, eines baubewohnenden Vertreters der Gobiiden, ist mit einem kritischen Po_2 von 9 - 16 Torr wesentlich größer (Congleton, 1974). Typhlogobius legt allerdings selbst keine Bauten an, sondern lebt kommensalisch in einem Bau von Callianassa affinis und ist somit in der Bauventilation von Callianassa abhängig. Congleton (1974) konnte auch in dem Bau von Callianassa mit Po_2 - Werten von unter 5 Torr deutlich niedrigere Sauerstoffpartialdrücke registrieren, als sie im Bau von Lumpenus auftreten. Obwohl beide Species in einem Bau leben, bestehen doch gravierende Unterschiede zwischen den beiden Biotopen, die diese große Differenz in der Hypoxietoleranz erklärlich machen.

Die Ventilationsfrequenz von Lumpenus erhöht sich ab einem Po_2 von 90 Torr und erreicht bei 60 Torr einen Wert von 87,5

± 9,6 Schlägen pro Minute. Eine weitere Steigerung ist nicht mehr erkennbar. Hier ergibt sich eine gute Übereinstimmung mit der Sauerstoffaufnahme, die unterhalb von 60 Torr deutlich zurückgeht. Um die Sauerstoffaufnahme in vollem Umfang aufrecht zu erhalten, wäre eine weitere Steigerung der Ventilation erforderlich, die jedoch nicht erfolgt, und die Sauerstoffaufnahme sinkt ab.

Da im Bau von Lumpenus der Po_2 nicht unter 60 Torr abfällt (nur in einem Fall wurden 57,1 Torr registriert), hat Lumpenus aufgrund seiner Ventilationsaktivität immer genügend Sauerstoff für einen aeroben Energiestoffwechsel zur Verfügung. Lediglich wenn der gesamte Wasserkörper über dem Bau hypox wird, können im Bau Po_2-Werte unter 60 Torr auftreten, bei denen der Fisch dann zur anaeroben Energieproduktion übergehen muß. Hiermit wird die bei der Diskussion der Sauerstoffaffinität aufgestellte Vermutung bestätigt, daß Lumpenus in seinem Bau nur selten Situationen ausgesetzt ist, die für ihn Sauerstoffmangel bedeuten. Unter atmungsphysiologischen Gesichtspunkten ist Lumpenus also gut an die Bedingungen in seinem Bau angepaßt.

Die Hypoxietoleranz von Blennius pholis ist deutlich größer als die von Lumpenus. Experimentelle Hypoxie konnte bis zu einem Po_2 von 15 - 20 Torr durchgeführt werden, ohne daß ein Tier starb. Die Ergebnisse der Versuche zur Sauerstoffaufnahme und zur Ventilationsfrequenz in Abhängigkeit von Hypoxie weisen dementsprechende Unterschiede auf. Der Sauerstoffverbrauch von Blennius sinkt bis zu einem Po_2 von 30 Torr sehr langsam, aber kontinuierlich ab. Erst zwischen 20 und 30 Torr wird der Sauerstoffverbrauch stärker reduziert. Die Ventilationsfrequenz steigt demgegenüber ab einem Po_2 von 100 Torr kontinuierlich an. Dieser Anstieg ist bis zu einem Po_2 von 20 Torr zu verfolgen, wo eine Ventilationsfrequenz von 85,6 ± 3,0 Schlägen pro Minute erreicht wird. Ein Plateau, wie es bei Lumpenus festzustellen war, ist nicht zu verzeichnen. Die Ventilationsfrequenz beträgt bei Normoxie 63,3 ± 6,4 Schläge pro Minute und stimmt mit den Ergebnissen von Laming et al. (1982) überein, der durch Zählen der Operkularbewegungen eine Frequenz von 65 - 80 Schlägen pro

Minute ermittelte. Die Angaben von Bridges et al. (1984) mit Frequenzen von 102 - 150 Schlägen pro Minute konnten nicht bestätigt werden.

Der kritische Po_2, bei dem die Sauerstoffaufnahme deutlich zurückgeht, liegt bei etwa 20 - 30 Torr. Eine hohe Hypoxietoleranz mit P_c - Werten von 20 - 30 Torr wurde bereits für mehrere Felstümpelfische ermittelt . Bei anderen marinen Fischen und bei Süßwasserfischen wird der kritische Po_2 oft bereits bei viel höheren Po_2 - Werten erreicht (Tabelle 25). Da in den Felstümpeln wesentlich niedrigere Po_2-Werte (ca. 20 Torr) auftreten können als in dem Bau von Lumpenus, ist die höhere Hypoxietoleranz von Blennius Audruck seiner Anpassung an die speziellen Gegebenheiten in seinem Habitat.

Die Problematik dieser Bestimmungen kann jedoch auch hier wieder aufgezeigt werden: Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Marvin und Heath (1968) sowie von Hughes et al. (1983) geben Ott et al. (1980) für Salmo gairdneri einen kritischen Po_2 von 21 Torr (10°C) sowie für Cyprinus carpio von 20 Torr (25°C) an.

Die Ursache für derartig gravierende Unterschiede in den Ergebnissen ist möglicherweise in der Methode zu suchen. Ott et al. (1980) haben in einem Durchflußrespirometer bei einem über längere Zeit konstanten Po_2 gearbeitet. Daher sind vermutlich bei den Fischen Anpassungen in den Funktionen des Herz-Kreislaufsystems an das verminderte Sauerstoffangebot erfolgt, die ansonsten aus Langzeitadaptationen an Hypoxie bekannt sind. Moss und Scott (1961) konnten in diesem Zusammenhang feststellen, daß der lethale Sauerstoffpartialdruck unter anderem davon abhängt, wie schnell der Partialdruck absinkt.

In Anbetracht dieser Ergebnisse scheint es sinnvoller zu sein, von einem kritischen Po_2 - Bereich zu sprechen als von einem kritischen Punkt. Der Po_2, bei dem die Sauerstoffaufnahme deutlich niedriger wird als unter Normoxie, ist individuell verschieden und auch von äußeren Faktoren abhängig, so daß das Abknicken der Sauerstoffverbrauchsgraphik sehr variabel ist und von einem scharfen Knick bis zu einem langsamen Absinken alle Übergänge zeigt.

Tabelle 25
Der kritische Po_2-Bereich bei verschiedenen Teleostiern

Species	Temperatur	krit. Po_2	Quelle
Clinocottus analis	15°C	16 - 24 Torr	Congleton, 1980
Paraclinus integripinnis	15°C	20 - 26 Torr	Congleton, 1980
Gibbonsia elegans	15°C	26 - 30 Torr	Congleton, 1980
Typhlogobius californiensis	15°C	9 - 16 Torr	Congleton, 1974
Gobius cobitis	12,5°C	30 - 40 Torr	Berschik, pers. Mitteil.
Ophiodon elongatus	9-11°C	50 - 70 Torr	Farrell und Daxboeck, 1981
Opsanus tau	22°C	29,3 Torr	Ultsch et al., 1981
Tinca tinca	11-14°C	etwa 30 Torr	Eddy, 1974
Lepomis macrochirus	25°C	60 - 70 Torr	Marvin und Heath, 1968
Ictalurus nebulosus	25°C	70 - 80 Torr	Marvin und Heath, 1968
Salmo gairdneri	12°C	60 - 70 Torr	Marvin und Heath, 1968
Serathoredon niloticus	25°C	etwa 20 Torr	Verheyen et al., 1985
Cyprinus carpio	20°C	80 Torr	Hughes et al., 1983
Blennius pholis	12,5°C	20 - 30 Torr	Eigene Ergebnisse
Lumpenus lampretaeformis	14°C	50 - 60 Torr	Eigene Ergebnisse

2.5. Die Konzentration organischer Phosphate im Blut in Abhängigkeit vom Po_2

Bei Lumpenus und Blennius wurde die Konzentration der organischen Phosphate ATP und GTP im Blut in Abhängigkeit vom Po_2 des Inkubationswassers analysiert. Bei Lumpenus konnte nur ATP und kein GTP nachgewiesen werden. Änderungen der ATP - Konzentration durch den Po_2 waren nicht feststellbar. Bei Blennius hingegen waren beide Phosphate nachweisbar, wobei die GTP - Konzentration mit 0,35 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut weniger als ein Fünftel der ATP - Konzentration beträgt. Die ATP - Konzentration ist mit etwa 2 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut doppelt so hoch wie bei Lumpenus, aber auch hier sind in Abhängigkeit vom Po_2 keine Veränderungen festzustellen. Die GTP - Konzentration hingegen geht unterhalb von einem Po_2 von 60 Torr deutlich zurück auf schließlich 0,07 $\mu mol \cdot ml^{-1}$ Blut bei 15 Torr, was einem Fünftel der Ausgangskonzentration entspricht.

Die Bedeutung der organische Phosphate (ATP, GTP, Inositolhexa- bzw. - pentaphosphat, 2,3-DPG) für die Regulation der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins ist gut analysiert (Bartlett, 1980; Powers, 1980; Wood, 1980; Weber, 1982). Bei Fischen sind die vorherrschenden Phosphate ATP und GTP (Rapoport und Guest, 1941; Leray, 1979), lediglich bei Arapaima gigas (Isaacks et al., 1978) wurde IPP sowie bei Cichlasoma (Gillen und Riggs, 1971) 2,3-DPG gefunden.

Jeweils ein Molekül Phosphat bindet mit einem tetrameren Hämoglobinmolekül. Es stabilisiert dadurch die deoxygenierte Form des Moleküls und verringert somit die Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff (Weber, 1982).

Die Inkubation von Fischen in hypoxem Inkubationswasser führt zu einem Abbau der organischen Phosphate und damit zu einer Verringerung des org. Phosphat/Hämoglobinverhältnisses, wobei diese Reaktion je nach Species bereits nach 2 - 3 Stunden Hypoxie zu erkennen sein kann (Wood und Johansen, 1972; Wood et al., 1975; Weber, Lykkeboe und Johansen 1976; Greaney und Powers, 1977 und 1978; Weber und Lykkeboe, 1978; Weber et al, 1979; Soivio et al., 1980; Tetens und Lykkeboe,

1981; Nikinmaa und Soivio, 1982: Jensen und Weber, 1982). Dieser Effekt ist auch in vitro mit anox inkubiertem Blut zu erzielen (Greaney und Powers, 1978; Tetens und Lykkeboe, 1981). Greaney und Powers (1978) sowie Powers (1980) folgern daraus, daß die Regulation dieses Phosphatabbaus auf zellulärer Ebene durch die Verminderung der oxidativen Phosphorylierung bei Sauerstoffmangel erfolgt. Ein wichtiger Hinweis wird von diesen Autoren darin gesehen, daß dieser Effekt auch durch Inhibitoren der Atmungskette (z.B. Cyanid) imitiert werden kann.

Tetens und Lykkeboe (1981) postulieren demgegenüber einen übergeordneten Regulationsmechanismus z.B. auf hormoneller Basis. Ein wesentliches Argument gegen das erstgenannte Modell ist die Beobachtung, daß dieser Phosphatabbau in vitro nur dann nachzuvollziehen ist, wenn der Sauerstoff vollständig entfernt wird. Bereits bei einem Po_2 von 3 - 5 Torr verläuft der Stoffwechsel der Fischerythrozyten aerob. In vivo ist aber z.B. schon bei einem Po_2 von 50 oder gar noch mehr Torr ein Phosphatabbau zu erreichen (vgl. Tetens und Lykkeboe, 1981).

Nicht nur die Regulation des Phosphatabbaus, auch die Wechselbeziehung zwischen den beiden Phosphaten ATP und GTP, die nebeneinander vorkommen, ist komplex und noch keineswegs vollständig verstanden. Das GTP-Molekül hat eine größere Affinität zum Hämoglobin - Molekül und ist daher ein gewichtigerer Modulator als ATP (Weber, 1982). Die Konzentrationsverhältnisse (Leray, 1979; Bartlett, 1980) und der Abbau der beiden Phosphate bei Hypoxie sind nun aber sehr variabel. Während bei der Forelle unter Hypoxie das ATP größeren Konzentrationsveränderungen unterliegt als das GTP (Tetens und Lykkeboe, 1981), ist es bei einigen luftatmenden Fischen (Weber et al., 1979), beim Karpfen (Weber und Lykkeboe, 1978) und beim Aal (Weber, Lykkeboe und Johansen, 1976) umgekehrt. Bei der Schleie (Jensen und Weber, 1982) und auch bei Blennius pholis bleibt die ATP - Konzentration unverändert, während die GTP - Konzentration absinkt. Weiterhin gibt es Fische, bei denen GTP gar nicht nachweisbar ist, wie z.B. Pleuronectes platessa (Wood et al., 1975), Fundulus

heteroclitus (Greaney und Powers, 1978) und Lumpenus lampretaeformis.

Ungeachtet der hohen individuellen Variabilität - für die es bisher noch keine Erklärung gibt - führen diese Reaktionen über den Phosphatabbau letztendlich zu einer Erhöhung der Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff, was als eine Anpassung an Sauerstoffmangelbedingungen zu verstehen ist.

Während bei Blennius diese Anpassung deutlich zu erkennen ist, fehlt sie offensichtlich bei Lumpenus. Auch bei einem Po_2 von lediglich 40 Torr ist noch keine Reduktion der ATP - Konzentration zu erkennen. Lumpenus ist also nicht in der Lage, durch Erhöhung der Sauerstoffaffinität des Hämoglobins die Aufnahme des Sauerstoffs in den Kiemen zu erleichtern. Wie anhand der Modellzeichnung (Abb. 44) zu ersehen ist, kann Lumpenus daher unter Hypoxie bei gleichem Po_2 nicht soviel Sauerstoff aufnehmen wie ein anderer Fisch, der über diesen Regulationsmechanismus verfügt. Dieses könnte eine Ursache für die geringere Hypoxietoleranz von Lumpenus sein, dessen kritischer Po_2-Bereich bereits bei 50 - 60 Torr Po_2 erreicht ist, während der kritische Bereich für Blennius bei 20 - 30 Torr liegt.

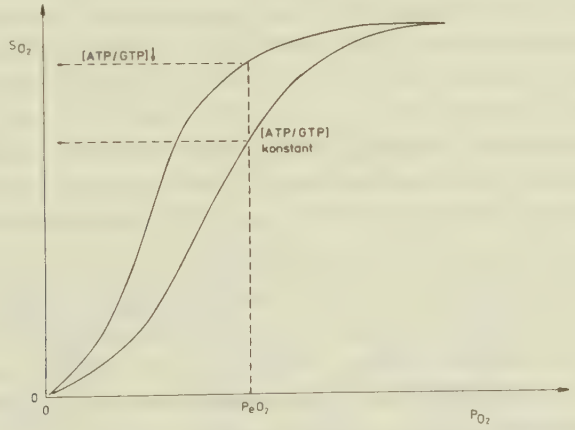

Abb. 44
Schematische Darstellung des möglichen Einflusses unterschiedlicher Konzentrationen organischer Phosphate auf die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins und damit auf die Menge des im Blut transportierten Sauerstoffs

3. Der Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur von Blennius und Lumpenus unter Hypoxie

Eine Diskussion über die Abhängigkeit der organischen Phosphatkonzentrationen des Blutes vom Po_2 macht die enge Verbindung des Gasaustausches mit dem zellulären Energiestoffwechsel deutlich. Bei ausreichender Sauerstoffversorgung erfolgt die Energiegewinnung in den Zellen der Muskulatur vorwiegend aerob durch die oxidative Phosphorylierung. Bei fallendem Po_2 wird die Kapazität dieser Phosphorylierungsreaktion gemindert, und die steigenden ADP- und P_i -Konzentrationen stellen vermutlich das entscheidende Bindeglied zum anaeroben Stoffwechsel mit seinen Substratkettenphosphorylierungen dar (Hochachka, 1985).

Die Bestimmung der Aktivität von wesentlichen Enzymen des Stoffwechsels ergab sowohl bei Blennius als auch bei Lumpenus hohe Aktivitäten der glykolytischen Enzyme. Daraus ist zu folgern, daß die Kapazität des anaeroben Stoffwechsels bei beiden Species groß ist. Das für diesen Stoffwechselweg erforderliche Glykogen muß vorwiegend aus endogenen Speichern des Muskelgewebes entnommen werden, da die Aktivität der Hexokinase, welche die aus dem Blut stammende Glucose phosphoryliert, sehr gering ist. Dieser anaerobe Stoffwechsel ist gekennzeichnet durch die Akkumulation von Gärungsprodukten, die im Vergleich zu den Endprodukten des aeroben Stoffwechsels wesentlich energiereicher sind. Die anaeroben Endprodukte werden daher meistens im Organismus gespeichert und bei erneuter, ausreichender Sauerstoffversorgung endgültig verbrannt oder zu Resynthesen verwendet.

Während man bei Invertebraten eine Vielfalt von anaeroben Stoffwechselwegen mit einer Unterscheidung von funktioneller und biotopbedingter Hypoxie nachweisen konnte (Zebe et al., 1980; Grieshaber, 1982; Gäde, 1983), wird bei Vertebraten für beide Anaerobiosen fast ausschließlich die Laktatgärung zur Energiegewinnung herangezogen.

Auch unter normoxen Bedingungen ist es durchaus denkbar, daß einzelne Muskelzellen Laktat produzieren, das allerdings von anderen aeroben Zellen sofort wieder oxidiert wird, so daß insgesamt die Laktatkonzentration konstant bleibt (Hochach-

ka, 1985). Unter Sauerstoffmangel wird Laktat aber im Gewebe akkumuliert. Neben dem Sauerstoffverbrauch wird daher auch die Laktatproduktion als Indikator für den kritischen Sauerstoffpartialdruck gewählt (Hughes, 1981).

Der entscheidende Vorgang sowohl im anaeroben als auch im aeroben Stoffwechsel ist die dauernde Bereitstellung von ATP. Wesentliche Charakteristika für die Beschreibung des Energiezustandes einer Zelle sind daher die Konzentrationen der Adenylate sowie das Verhältnis der Nucleotide zueinander, das man als eine Beschreibung des Energiezustandes (energy charge, EC; Atkinson, 1968) der Zelle betrachten kann. Dieses Konzentrationsverhältnis berechnet sich aus folgender Formel:

$$EC = \frac{ATP + 0{,}5 \cdot ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

Der ATP-Gehalt in der weißen Muskulatur von Fischen beträgt zwischen 4 und 7 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg und der Energieinhalt liegt zwischen 0,89 und 0,95 (Vetter und Hodson, 1982).

Bei Hypoxie wird nun die ATP-Konzentration zunächst durch das Phosphagen gepuffert. Es kommt zu einem Abbau des Creatinphosphats, dem Phosphagen der Wirbeltiere, womit eine konstante ATP-Konzentration und ein konstanter Energieinhalt aufrechterhalten wird (Van den Thillart, et al., 1980; Van Waarde et al., 1983).

Während der Abbau des Phosphagens bei Lumpenus bereits unterhalb von einem Po_2 von 80 Torr zu erkennen ist, setzt er bei Blennius erst bei einem Po_2 von weniger als 60 Torr ein. Bei der Flunder ist diese Reaktion bei einem Po_2 von 15 Torr ebenfalls festzustellen. Allerdings ist hier auch der Energieinhalt bereits geringfügig gegenüber den Kontrollwerten vermindert (Jorgensen und Mustafa, 1980b). Leider fehlen Daten von Po_2-Werten zwischen Normoxie und 15 Torr, so daß nicht zu erkennen ist, bei welchem Po_2 der Phosphagenabbau beginnt. Letzteres gilt auch für die Studien am Goldfisch und am Aal, bei denen dieser Phosphagenabbau bei einem Po_2 von 8 Torr nachweisbar ist, wobei der Energieinhalt selbst bei diesem niedrigen Partialdruck im weißen Muskel noch kon-

stant ist (Van den Thillart et al., 1980; Van Waarde et al., 1983).

Bei Blennius und Lumpenus ist der Energieinhalt bei allen Inkubationen unverändert geblieben, Po_2-Werte unter 10 Torr wurden jedoch nicht eingesetzt. Bei verschiedenen Teleostiern konnte gezeigt werden, daß bei einer Sauerstoffkonzentration von 0,5 $mmol \cdot l^{-1}$ durchaus eine Verminderung des Energieinhaltes und vor allem ein Abbau des Gesamtadenylatgehaltes auftreten können. Im Gegensatz zu anderen Arten ließen die Bewohner der Gezeitenzone Fundulus heteroclitus und Mugil cephalus diesen Nucleotidabbau jedoch auch bei dieser Sauerstoffkonzentration noch nicht erkennen, was ein deutlicher Hinweis auf die hohe Hypoxieresistenz dieser Fische ist (Vetter und Hodson 1982).

Der Abbau der Adeninnucleotide, der über das Enzym AMP-Deaminase erfolgt (Driedzic und Hochachka, 1976), ist bei Blennius und Lumpenus in den Experimenten der vorliegenden Arbeit nicht nachzuweisen. Unter Einbeziehung der Metabolite des anaeroben Stoffwechsels, die von Vetter und Hodson (1982) nicht bestimmt worden sind, läßt sich anhand der vorliegenden Ergebnisse vielmehr folgendes Bild skizzieren: Die erste Veränderung im Metabolitspiegel wird mit dem Abbau des Phosphagens sichtbar. Bei etwas niedrigeren Po_2-Werten setzt dann die Akkumulation von Laktat ein, parallel dazu ist eine Erhöhung der Glucose-6-phosphat-Konzentration zu beobachten. Sowohl der Energieinhalt als auch der gesamte Adenylatgehalt sind zu diesem Zeitpunkt noch unverändert.

Aus den Ergebnissen von Van den Thillart et al. (1980) und Van Waarde et al. (1983) ist zu entnehmen, daß der Abbau der Adenylate in der weißen Muskulatur erst bei noch niedrigeren Po_2-Werten einsetzt.

Während diese Reaktionsfolgen bei den bisher untersuchten Fischen ähnlich verlaufen, ist der Sauerstoffpartialdruck, bei dem diese Prozesse der anaeroben Energiebereitstellung einsetzen, artspezifisch. Bei Lumpenus ist bei 40 Torr Po_2 bereits eine deutliche Laktatakkumulation festzustellen, während Blennius bei diesem Sauerstoffpartialdruck noch keinerlei Anzeichen einer verstärkten Energieproduktion aus

Gärungsreaktionen erkennen läßt. Anhand dieser Untersuchungen zum Stoffwechsel in der Skelettmuskulatur läßt sich somit ebenfalls die höhere Hypoxieresistenz von Blennius pholis aufzeigen und die hohe Resistenz von Felstümpelfischen gegenüber Sauerstoffmangel bestätigen, wie sie von Vetter und Hodson (1982) andeutungsweise zum Ausdruck gebracht wurde. Während die Flunder diesbezüglich mit Blennius durchaus vergleichbar ist (Jorgensen und Mustafa (1980a,b), ist bei einigen Süßwasserfischen (Karausche, Goldfisch und Aal) eine geringfügig höhere Resistenz gegen Sauerstoffmangel nachzuweisen. Selbst bei einem Po_2 von 8 Torr ist bei diesen Fischen noch kaum Laktatakkumulation festzustellen, und sie überleben sogar einige Stunden der Anoxie (Johnston, 1975a; Van den Thillart et al., 1980; Van Waarde et al., 1983), wobei die Überlebenszeit unter Anoxie sehr stark temperaturabhängig ist. Im Experiment von Van den Thillart et al. (1980) haben die Goldfische 12 h Anoxie bei einer Temperatur von 20°C überlebt.

Die Veränderung der Konzentrationen von Laktat und Glucose im Blut in Abhängigkeit vom Po_2 verläuft bei Blennius und Lumpenus unterschiedlich. Während der Anstieg der beiden Metabolite bei Blennius exakt die Änderungen der Laktat und Glucose-6-phosphat-Gehalte in der Skelettmuskulatur wiederspiegelt, ist im Blut von Lumpenus eine erhöhte Laktatkonzentration nachzuweisen, noch bevor der Laktatgehalt in der Skelettmuskulatur angestiegen ist. Dieser Anstieg der Laktatkonzentration muß also durch andere Organe verursacht werden, wofür z. B. die inneren Organe und die Atmungsmuskulatur in Frage kommen (Jorgensen und Mustafa, 1980a; Van Waarde et al., 1983). Van Waarde und Mitarbeiter (1983) fanden in der Leber und auch im Herzen des Aales eine Akkumulation von Laktat, die bereits bei deutlich höheren Po_2-Werten einsetzte als in der Skelettmuskulatur. Auch im Gehirn werden bei Hypoxie sehr hohe Konzentrationen an Laktat erreicht (Shoubridge und Hochachka, 1983).

Laktat kann bei Aktivität unter Umständen in der Muskulatur zurückgehalten werden (Wardle, 1978), nach einigen Stunden der Hypoxie wird es jedoch ins Blut abgegeben. Im Blut

erfolgt der Transport zu den Organen, die bei ausreichender Sauerstoffversorgung Laktat für die endgültige Oxidation oder für die Gluconeogenese verwenden können. Hierfür kommen in erster Linie die rote Muskulatur und der Herzmuskel in Frage (Ottolenghi et al., 1983; Hochachka, 1985).

Parallel zum Anstieg der Laktatkonzentration im Blut erhöht sich auch der Glucosespiegel. Die Glucose wird vermutlich in der Leber freigesetzt. Diesem Organ wird bezüglich des Glucosehaushaltes der Fische eine ähnliche Funktion zugeschrieben, wie sie von diesem Organ bei den Säugetieren übernommen wird (Ottolenghi et al., 1983).

Ein Literaturvergleich über Laktatkonzentrationen in der weißen Skelettmuskulatur offenbart eine große Diskrepanz. Die in dieser Arbeit ermittelten Werte von 1 - 2 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg liegen deutlich niedriger als die Werte vieler anderer Studien, die zwischen 7,7 und 15 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg variieren (vgl. Van den Thillart, 1982). Lediglich Van den Thillart und Van Waarde (zitiert nach Van den Thillart 1982) sowie Shoubridge und Hochachka (1983) konnten mit 1,5 bzw. 0,7 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg beim Goldfisch vergleichbare Werte ermitteln.

Die Ursache für diese Differenzen ist in der Art der Probennahme zu suchen, die sehr große Sorgfalt erfordert (vgl. Adcock und Dando, 1983). In kürzester Zeit kann ein Fisch einige Schwanzschläge ausführen, die bei der hohen Aktivität der Laktatdehydrogenase sofort einen deutlichen Anstieg in der Laktatkonzentration zur Folge haben können. Die in dieser Arbeit benutzte Methode scheint derzeit die vorteilhafteste zu sein. Nach der Betäubung der Tiere mit MS 222 wird das Gewebe schnell präpariert und mit einer Wollenberger-Zange tiefgefroren. Rasches Dekapitieren kann unter Umständen ebenfalls zu guten Ergebnissen führen, wenngleich das Fangen des Fisches sicherlich einen Unsicherheitsfaktor darstellt (Shoubridge und Hochachka, 1983). Eine Betäubung durch einen Schlag auf den Kopf oder das Überführen des Fisches in flüssigen Stickstoff sollten demgegenüber vermieden werden (vgl. Driedzic und Hochachka, 1975; Johnston 1975a,b; Jorgensen und Mustafa 1980a; Smith und Heath, 1980; Burton und Heath, 1980).

Wenn aufgrund eines methodischen Fehlers die Fische bei der Probennahme aktiv sind und die Laktatkonzentrationen zu hoch sind, so kann sicherlich noch eine relative Änderung der Metabolitkonzentrationen aufgrund der Versuchsbedingungen diskutiert werden, da es sich um einen systematischen Fehler handelt. Die absoluten Konzentrationen sind jedoch vermutlich nicht sehr zuverlässig, da die Akkumulation von anaeroben Endprodukten sicher nicht unbegrenzt fortgesetzt werden kann, zumal bei der entsprechenden ATP-Hydrolyse Protonen freigesetzt werden, die den Säure-Basen-Haushalt belasten. Wenn daher die Aktivität bei der Probennahme sozusagen auf einen aufgrund von Hypoxie bereits erhöhten Level an Laktat aufbaut, so ist die Möglichkeit zur weiteren Laktatproduktion vermutlich reduziert gegenüber den bisher unbelasteten Tieren.

Bei der Bestimmung des kritischen Po_2-Bereiches aufgrund der biochemischen Analysen ergibt sich ein Wert von etwa 50 - 60 Torr für Lumpenus und ein Wert von etwa 20 - 30 Torr für Blennius. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen aus den Bestimmungen des Sauerstoffverbrauchs überein. Die Steigerung der Ventilationsaktivität unter hypoxen Bedingungen reicht zunächst aus, um den Sauerstoffbedarf der weißen Skelettmuskulatur zu decken. In der letzten Phase vor Erreichen des kritischen Sauerstoffpartialdruckes kommt es allerdings bereits zu einem Abbau des Phosphagens. Bei Erreichen des kritischen Sauerstoffpartialdruckes kann die Sauerstoffaufnahme nicht mehr in vollem Umfang aufrechterhalten werden, weil die Ventilationsleistung entweder nicht weiter gesteigert werden kann, oder aber weil sie aufgrund des hohen zusätzlichen Energiebedarfes, der dadurch entsteht, unökonomisch wird.

Die Ventilationsleistung wird also gedrosselt, die Sauerstoffaufnahme fällt stark ab, und in der weißen Skelettmuskulatur beginnt die anaerobe Energieproduktion zu dominieren. Sowohl für Blennius als auch für Lumpenus zeigen die vorliegenden Ergebnisse, daß der durch die Messung des Sauerstoffverbrauchs und der durch die Analyse des Energiestoffwechsels ermittelte kritische Sauerstoffpartialdruck

übereinstimmen. Der kritische Po_2-Bereich ist zwar bei Lumpenus und Blennius unterschiedlich, aber bei beiden Species entspricht er, wie bereits in IV.2.4. ausgeführt, in etwa den niedrigsten Po_2-Werten, die im jeweiligen Biotop der Fische gemessen werden konnten. Sowohl Lumpenus als auch Blennius sind daher respiratorisch und bezüglich ihres Energiestoffwechsels so an ihr Biotop angepaßt, daß sie nur bei für den Biotop extrem niedrigen Sauerstoffpartialdrücken zur vorwiegend anaeroben Energieproduktion übergehen müssen.

4. Luftatmung bei Blennius pholis

4.1. Die Problematik der Luftatmung bei Fischen

Luftatmung bei Fischen stellt ein intensiv untersuchtes Feld dar. Man kennt zwei verschiedene Arten der Luftatmung: Ein mehr oder weniger ausgeprägtes Luftschnappen an der Wasseroberfläche oder ein vollständiges Verlassen des Wassers, das im Extremfall bis zum Überdauern von Trockenperioden (Ästivation) reichen kann. Trotz dieser beiden Atmungstypen wurden eine Vielfalt akzessorischer Atmungsorgane sowie mehrere Variationen der Kreislaufsysteme entwickelt (Bertin, 1958; Johansen, 1970; Munshi, 1976; Satchell, 1976). Aufgrund der Formenfülle ist es verständlich, wenn Gordon et al. (1969) zu dem Schluß kommen, daß jeder amphibisch lebende Fisch seinen eigenen Weg zur Luftatmung gefunden hat.

Es lassen sich jedoch einige Prinzipien herauskristallisieren, die trotz vieler Ausnahmen bei der Anpassung der meisten luftatmenden Fische Beachtung gefunden haben. Die Luft dient zunächst im wesentlichen als Sauerstoffquelle, wobei der Gasaustausch vor allem in den akzessorischen Organen erfolgt und nur selten an den Kiemen. Die Kiemen kollabieren an der Luft, sofern sie nicht besonders verstärkt sind wie z. B. bei Synbranchus marmoratus (Carter und Beadle, 1931). Während die Sauerstoffaufnahme in den lungenähnlichen Organen unproblematisch ist, ergeben sich für die CO_2-Ausscheidung schwerwiegende Probleme. Beträgt die Extraktionsrate für den Sauerstoff lediglich 20%, so ändert sich der Po_2 in der Atemluft um etwa 30 Torr, was bei einem Po_2 von 150 Torr in der Luft sehr wenig ist. Ein respiratorischer Quotient von 0,8 bis 1,0 bedeutet jedoch, daß der Pco_2 in dem kleinen Luftatmungsorgan entsprechend ansteigen muß, damit das Kohlendioxid ausgeschieden werden kann. Da der Gasaustausch lediglich über Diffusion erfolgt, muß der Pco_2 im Blut ebenfalls so hohe Werte erreichen, damit der Diffusionsgradient bestehen bleibt. Derart hohe Pco_2-Werte bedeuten eine sehr starke Acidose, falls sie nicht durch eine entsprechend hohe Bikarbonatkonzentration ausgeglichen werden. Aufgrund der hohen Löslichkeit von CO_2 im Wasser, die die CO_2-Ausscheidung erleichtert, haben Fische jedoch einen

niedrigen Pco_2 (2-5 Torr) und entsprechend niedrige Bikarbonatkonzentrationen(5-10 $mmol \cdot l^{-1}$) im Blut (Heisler, 1984). Der Säure-Basen-Haushalt vieler Fische kann also die hohen CO_2-Partialdrücke, die beim Gasaustausch in einem akzessorischen Luftatmungsorgan für eine vollständige Ausscheidung des im Stoffwechsel anfallenden CO_2 erforderlich sind, nicht verarbeiten. Das bedeutet, daß häufig weniger CO_2 an die Luft abgegeben als Sauerstoff aufgenommen wird; der respiratorische Quotient für den Gasaustausch in Luftatmungsorganen liegt oft zwischen 0,2 und 0,5 (Singh, 1976; Randall et al., 1981a). Hieraus wird verständlich, daß mit zunehmender Abhängigkeit von der Luft als Atemmedium der Bikarbonatgehalt sowie der Pco_2 im Blut ansteigen (Johansen, 1970; Howell, 1970; Rahn und Howell, 1976; Randall et al., 1981a). Dadurch werden die Voraussetzungen für eine effektivere CO_2-Ausscheidung in den Luftatmungsorganen geschaffen.

Fische, die in der Lage sind, an der Luft den Gasaustausch ohne spezialisierte Atemorgane zu vollziehen, haben dagegen an der Luft häufig recht hohe RQ-Werte (Graham, 1976). Sie geben CO_2 über große Körperoberflächen an die Atmosphäre ab, und bedingt durch das große Luftvolumen und die Luftzirkulation kann kaum eine Erhöhung des Pco_2 eintreten. Ein Anstieg des Pco_2 im Blut zur Aufrechterhaltung des Diffusionsgradienten ist folglich nicht notwendig.

Die Ventilation von akzessorischen Organen erfolgt häufig durch rhythmisches Ein- und Ausatmen, so daß der Atmungsvorgang im Vergleich zur Atmung im Wasser modifiziert werden muß (Randall et al., 1981a; Liem, 1980). Außerdem ist bei Fischen, die ständig sehr viel Sauerstoff über akzessorische Luftatmungsorgane aufnehmen, festzustellen, daß die Kiemen im Vergleich mit anderen Teleostiern reduziert sind (Johansen, 1970). Da die Atmungsorgane bei vielen Fischen in Serie und nicht parallel durchblutet werden, ist zu vermuten, daß dadurch verhindert werden soll, daß der durch das Lufatmungsorgan aufgenommene Sauerstoff über die Kiemen wieder an eventuell hypoxes Wasser abgegeben werden kann. Fische, welche die Luft als zusätzliches Sauerstoffreservoir nutzen können, indem sie die Luft schnappen, tun dies um so häufi-

ger, je niedriger der Po_2 im Wasser ist (Johansen et al., 1967; Johansen et al., 1970; Burggren, 1979). Der Anteil der Luftatmung an der gesamten Sauerstoffaufnahme steigt ebenfalls mit steigender Temperatur (Johansen et al., 1970; Yu und Woo, 1985).

Die Fähigkeit, die Luft als zusätzliche Sauerstoffquelle zu nutzen, ermöglicht es also den Fischen, in Biotopen mit stark wechselnden Sauerstoffkonzentrationen oder gar in Biotopen mit ständigem Sauerstoffmangel zu leben. Viele luftatmende Fische findet man dementsprechend in den Sumpf- und Überschwemmungslandschaften großer Flüsse.*

Andere Biotope sind die Gezeitenzone und die Mangrovengebiete der Meere. Hier besteht in exponierten Zonen die Gefahr, daß die Fische bei zurückweichendem Wasser trockenfallen. Diese Fische sind, wie z.B. die Schlammspringer (Periophthalmus-Arten) in Südostasien, klein und haben kaum akzessorische Atmungsorgane. Auch Blennius pholis, der in den Felstümpeln nahe der Hochwasserlinie zu finden ist, kann sich längere Zeit außerhalb des Wassers aufhalten.

4.2. Der Gasaustausch bei Luftatmung

Die Beobachtung von Daniel (1971), daß Blennius 4-6 Tage an der Luft überlebt, sofern die Haut feucht bleibt, läßt auf eine gute Anpassung an Luftatmung schließen. Diese Vermutung wird bestätigt durch die nahezu unveränderte Gasaustauschrate und den unveränderten respiratorischen Quotienten in Luft, verglichen mit dem RQ im Wasser. Eine O_2-Aufnahme von 1,68 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ entspricht zudem den Ergebnissen früherer Arbeiten (Daniel, 1971; Wallace, 1973; Campbell und Spencer Davies, 1975; Laming et al., 1982). Eine unveränderte Stoffwechselrate bei Luftatmung konnte ebenfalls bei Mnierpes macrocephalus (Graham, 1973) und Gillichthys mirabilis (Todd und Ebeling, 1966) sowie bei den Schlammspringern Periophthalmus sobrinus (Gordon et al., 1969) und Periophthalmus cantonensis Gordon et al., 1978) nachgewiesen werden. Neochanna burrowsius ist sogar in der

*(z.B. Amazonas, vgl. Can. J. Zool. Vol. 56(5), 1978)

Lage, die Stoffwechselrate bei Luftatmung zu erhöhen (Meredith et al., 1982). Die genannten Fische haben keine lungenähnliche Organe für die Luftatmung. Von den Periophthalmus-Arten ist jedoch bekannt, daß sie Wasser in ihrer Kiemenkammer zurückhalten, mit dem die Kiemen ventiliert werden (Stebbins und Kalk, 1961). Bei den Gobiiden findet man zudem häufig eine starke Vascularisierung des Buccopharynx (Schöttle, 1932).

Ein weiteres Indiz für eine gute Anpassung von Blennius an Luftatmung ist die unveränderte Herzaktivität, eine weitere Parallele zu den Ergebnissen, die an Periophthalmus sobrinus gewonnen wurden (Gordon et al., 1969). Diese Werte stützen die Ausführungen von Daniel (1971), der im Gegensatz zu Laming et al. (1982) eine konstante Herzschlagfrequenz konstatiert. Es tritt jedoch beim Übergang zur Luftatmung eine vorübergehende Bradykardie auf, die aber nur wenige Sekunden bis höchstens 1 Minute andauert.

Die parallel hierzu aufgezeichneten Unregelmäßigkeiten in der Atmungsaktivität dauern selten länger als 2 Minuten. Der sich dabei vollziehende Wechsel zum rhythmischen Ein- und Ausatmen läßt bereits auf einen Gasaustausch im Buccalraum schließen. Das Schließen der Operkula verhindert ein Austrocknen der Kiemen durch einen ständigen Luftstrom und ermöglicht eventuell, daß ein kleiner Wasserfilm zwischen den Kiemen erhalten bleibt. Dieser Film könnte aus dem Buccalraum mit Gas versorgt werden, so daß die Kiemen bei Luftatmung teilweise in Funktion bleiben würden.

Sehr viele luftatmende Fische geben CO_2 überwiegend ins Wasser ab, bei Luftatmung ist der respiratorische Quotient reduziert auf Werte zwischen 0,2 und 0,5 (Singh, 1976, Randall et al., 1981a). Bei dem luftatmenden Fisch Amia calva, der bei langsam einsetzender Trockenheit in der Lage ist, zu aestivieren, kommt es bei schnellem, vollständigem Verlassen des Wassers für nur 45 Minuten zu einer starken Acidose durch die Akkumulation von CO_2 im Blut. Die Fische sterben schließlich, auch wenn nach 45 Minuten das Respirometer wieder mit Wasser gefüllt wird (Daxboeck et al., 1981). Dadurch stellt sich die Frage, wodurch Blennius in

der Lage ist, auch bei Luftatmung die CO_2-Abgabe konstant zu halten.

Untersuchungen der letzten Jahre haben im Gegensatz zu früheren Studien (Haswell und Randall, 1976; Haswell und Randall, 1978; Haswell et al., 1980) gezeigt, daß die Erythrozyten der Fische permeabel für Bikarbonat sind (Cameron, 1978b; Obaid et al., 1979; Heming und Randall, 1982; Wood et al., 1982), und daß die CO_2-Ausscheidung vorwiegend über die Carboanhydrase der Erythrozyten erfolgt (Perry et al., 1982; Randall und Daxboeck, 1984). Burggren und Haswell (1979) konnten bei dem Labyrinthfisch Trichogaster trichopterus das Enzym Carboanhydrase in dem Labyrinthorgan nachweisen, und sie folgerten daraus, daß dieses Enzym entscheidend an dem hohen RQ-Wert von 0,79 dieses Fisches bei Luftatmung beteiligt ist. Die CO_2-Ausscheidung an der Luft könnte also demnach durch eine in den Epithelzellen lokalisierte Carboanhydrase gefördert werden.

4.3. Die mögliche Beteiligung einer im Epithel lokalisierten Carboanhydrase

Bei Blennius können drei Organe am Gaswechsel beteiligt sein: Die Kiemen, die Haut und der Ösophagus. Diese Gewebe wurden deshalb histochemisch untersucht, um das Enzym Carboanhydrase zu lokalisieren. Der Nachweis erfolgte mit einer Methode nach Dermietzel et al. (1985), bei der das Enzym mit einem Sulfonamid komplexiert wird und somit spezifisch fluoresziert. Diese Methode ist wesentlich einfacher und schneller durchzuführen als z. B. die Methode nach Hansson (1967). Da mit unfixiertem Material gearbeitet werden muß, ist die Auflösung im lichtmikroskopischen Bild nicht sehr groß, was sich jedoch im Hinblick auf die Zielsetzung dieser Arbeit nicht als nachteilig erwies.

In den Kiemen ist das Enzym auf den Filamenten und an den Übergängen zu den Lamellen lokalisiert. Auf den Lamellen, die der eigentliche Ort des Gasaustausches sind (Randall, 1970), ist das Enzym nur an wenigen Stellen nachweisbar. Eine elektronenmikrospische Untersuchung zeigte, daß an den Stellen, an denen der Nachweis auf Carboanhydrase positiv

ist, vorwiegend Chloridzellen lokalisiert sind (Abb. 45).

Dimberg et al. (1981) wiesen beim Lachs (Salmo salar) mit der Methode von Hansson Carboanhydrase ebenfalls in den Chloridzellen nach. Allerdings zeigten auch die Epithelzellen der Lamellen enzymatische Aktivität. Bei einer Adaptation an Salzwasser nahm die Intensität der Färbung sehr stark zu. Ein positiver Nachweis von Carboanhydrase in den Chloridzellen gelang auch Lacy (1983) in den Operkularmembranen von Fundulus heteroclitus.

Die Chloridzellen sind bedeutsam für die Osmoregulation. Ihre Zahl ist in den Kiemen von Süßwasserfischen weitaus geringer als in den Kiemen von Salzwasserteleostiern (Laurent, 1984). Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, daß die Carboanhydrase in den Kiemen vornehmlich in die Osmoregulation eingebunden ist und nicht in den Gasaustausch. Damit könnten aber auch beim luftatmenden Blennius diese Zellen für die CO_2-Abgabe der Kiemen keine Rolle spielen.

In der Epidermis von Blennius zeigen nur wenige große Zellen Fluoreszenz bei einer Inkubation in DNSA. Bei diesen Zellen handelt es sich vermutlich wiederum um Chloridzellen, die bereits von Nonnotte et al. (1979) beschrieben wurden. Der Carboanhydrasenachweis in der Epidermis insgesamt ist sehr schwach. Die Fluoreszenz der Membranen der Muskelzellen ist viel ausgeprägter als die der Epidermis. Der Nachweis des Enzyms in Muskelzellen ist erst in den letzten Jahren gelungen (Zborowska-Sluis et al., 1974; Gros et al., 1980), und die Aufgaben, die dieses Enzym hier erfüllt, sind noch keineswegs vollständig aufgeklärt. Diskutiert wird eine Beschleunigung des CO_2-Transportes (Zborowska-Sluis et al., 1974; Sanyal et al., 1982, Scheid et al., 1980; Geers und Gros, 1984) sowie in jüngster Zeit eine Beteiligung an der neuromuskulären Reizübertragung an den Synapsen (Scheid und Siffert, 1985).

Da der Nachweis von Carboanhydrase in der Epidermis sehr schwach ist und sich vermutlich auf die Chloridzellen beschränkt, ist zu folgern, daß dieses Enzym auch hier keine wesentliche Rolle für den Gasaustausch spielt.

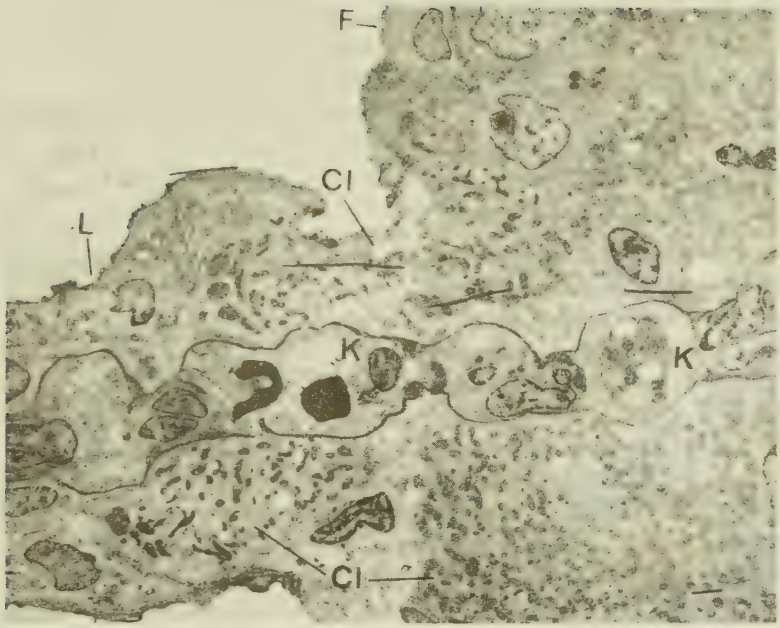

Abb. 45
Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Längsschnittes durch die Kiemen von Blennius pholis; Vergrößerung 1500-fach
Cl = Chloridzelle; F = Kiemenfilament; K = Blutkapillare;
L = Kiemenlamelle
(Greven und Pelster; unveröffentlicht)

Im Ösophagus verlief der Nachweis der Carboanhydrase negativ. Erst kurz vor Beginn des Darmes ist das Enzym im Epithel des Ösophagus nachzuweisen. Die Untersuchungen ergeben somit keine Hinweise darauf, daß der Ösophagus allein für den Gastausch im Kopfbereich verantwortlich ist.

Aufgrund dieser histochemischen Analysen ist zu folgern, daß eine epitheliale Carboanhydrase bei Blennius pholis nicht oder nur unwesentlich an der CO_2-Ausscheidung bei Luftatmung beteiligt ist. 50% des Gaswechsels erfolgen aber im Kopfbe-

reich, wie mit Hilfe des kompartimentierten Respirometers festgestellt werden konnte. Dieser Gasaustausch kann folglich auch bei Luftatmung nur in den Kapillarsystemen unter Beteiligung der Carboanhydrase in den Erythrozyten erfolgen, so wie es bei der Atmung im Wasser in den Kiemen der Fall ist (Randall und Daxboeck, 1984). Eine Parallele zur im Epithel lokalisierten Carboanhydrase der Labyrinthfische (Burggren und Haswell, 1979) ist somit nicht gegeben.

Der Gasaustausch im Kopfbereich kann aus drei potentiell am Gasaustausch beteiligten Organen, den Kiemen, dem Ösophagus und der Haut im Kopfbereich stammen. Die histologischen Aufnahmen bestätigen die Existenz eines dichten Kapillarnetzes in den Längsfalten des kurzen Ösophagus, welches von Laming et al. (1982) beschrieben worden ist. Die Längsfaltung des Ösophagus ist jedoch bei allen Fischen zu finden (Pernkopf und Lehner, 1937), so daß bei Blennius keine außergewöhnliche Oberflächenvergrößerung in diesem Organ vorhanden ist. Daher ist wiederum nicht zu erwarten, daß der Gasaustausch im Kopfbereich allein im Ösophagus erfolgt, vielmehr müssen andere Kapillarsysteme beteiligt sein. Als weiteres Kapillarnetz im Kopfbereich ist das der Kiemen zu nennen. Die Haut im Kopfbereich dürfte keine große Rolle spielen, da die Oberfläche nur klein ist. Im Restkörper hingegen ist das Kapillarnetz der Haut allein verantwortlich für den Gasaustausch, und hier erfolgen die anderen 50% des Gaswechsels, wie die Versuche gezeigt haben. Die Hautatmung ist also von großer Bedeutung für die Luftatmung.

4.4. Die Rolle der Hautatmung

Da eine Carboanhydrase der Epithelzellen für die Ausscheidung des CO_2 keine große Bedeutung haben kann, muß der Gasaustausch durch Diffusion in den Kapillarnetzen erfolgen. Daher bleibt nun zu analysieren, ob das Kapillarnetz der Haut bzw. das des Ösophagus zum Gasaustausch beitragen können. Die Diffusionsstrecken zwischen den Kapillarnetzen in der Haut und im Ösophagus und dem umgebenden Medium betragen etwa 30 bzw. 20 - 25 µm und sind somit lediglich 5 - 6 mal länger als in den hochspezialisierten Kiemen. Mit Hilfe des

Fick'schen Diffusionsgesetzes läßt sich berechnen, ob die Diffusionsrate ausreicht, damit in diesen Organen eine Sauerstoffaufnahme erfolgen kann.

Fick'sches Diffusionsgesetz

$$\dot{M}o_2^* = Ko_2 \cdot F \cdot l^{-1} \cdot (P_E - P_I)o_2$$

$\dot{M}o_2^*$ = Diffusionsrate ($\mu mol \cdot h^{-1}$)
Ko_2 = Krogh'scher Diffusionskoeffizient ($nmol \cdot sec^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot Torr^{-1}$)
F = Fläche (cm^2)
l = Diffusionsstrecke (cm)
P_E = Po_2 außen
P_I = Po_2 im Blut

Für den Krogh'schen Diffusionskoeffizienten kann zunächst einmal ein Wert von $K = 4{,}34 \cdot 10^{-6}$ $nmol \cdot sec^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot Torr^{-1}$ eingesetzt werden, den Kirsch und Nonnotte (1977) für die Haut des Aales ermittelt haben. Die Dicke der Haut wurde mit $l = 0{,}003$ cm bestimmt. Für $P_E O_2 - P_I O_2$ wird ein Wert von 100 Torr angenommen. Der venöse Po_2 im Bulbus arteriosus beträgt etwa 30 Torr, der Partialdruck in der Luft etwa 150 Torr. Der Po_2 in den Kapillarnetzen dürfte noch geringfügig höher sein als im Bulbus arteriosus, daher wird ein Po_2 von 100 Torr als wahrscheinlich angesehen. Für die Hautoberfläche kann auf eine Untersuchung von Nonnotte und Kirsch (1978) zurückgegriffen werden, die für einen Blennius von 18 g eine Hautoberfläche von 62 cm^2 angeben.

$$\dot{M}o_2^* = 4{,}34 \cdot 10^{-6} nmol \cdot sec^{-1} \cdot Torr^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot 100\ Torr \cdot 0{,}003\ cm^{-1} \cdot 3600\ sec \cdot 62 cm^2$$

$$\dot{M}o_2^* = 32{,}20\ \mu mol \cdot h^{-1}$$

Im Respirometer wurde ein Sauerstoffverbrauch von $\dot{M}o_2 = 1{,}73$ $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ bestimmt (mittleres Gewicht der Fische 25 g). Ein Fisch von 18 g verbraucht dementsprechend:

$$1{,}73\ \mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1} \cdot 18\ g = 31{,}14\ \mu mol \cdot h^{-1}$$

Diese Berechnung zeigt, daß der gesamte Sauerstoffbedarf von

Blennius über die Hautatmung gedeckt werden könnte, wenn der für die Haut des Aales ermittelte Diffusionskoeffizient in die Berechnung eingesetzt wird. Der Krogh'sche Diffusionskoeffizient für die Aal-Haut ist aber vermutlich deutlich niedriger als der für die Haut von Blennius, da die Haut des Aales nicht zur Sauerstoffversorgung anderer Gewebe beiträgt (Kirsch und Nonnotte, 1977), die Haut von Blennius ist jedoch sehr wohl dazu in der Lage (Nonnotte und Kirsch, 1978). Nimmt man daher für die obigen Berechnungen einen höheren Krogh'schen Diffusionskoeffizienten, z.B. den für Froschmuskulatur von $1,4 \cdot 10^{-5}$ $nmol \cdot sec^{-1} \cdot cm^{-1} \cdot Torr^{-1}$ (Dejours, 1981), so ergibt sich eine deutlich höhere Diffusionsrate, die den Sauerstoffverbrauch des Fisches mehrfach übersteigt:

$$Mo_2^* = 114,2\ \mu mol \cdot h^{-1}$$

Die mögliche Diffusionsrate durch die Haut reicht folglich aus, um den gesamten Sauerstoffbedarf des Tieres zu decken. Diese Berechnungen zeigen, daß die Kapillarsysteme der Haut und des Ösophagus aufgrund der möglichen Diffusionsraten einen großen Beitrag zur Sauerstoffaufnahme des Fisches leisten können. Die im Respirometer ermittelte Sauerstoffaufnahme durch die Haut kann daher durch einen Gasaustausch zwischen der Luft und dem Kapillarnetz der Haut erklärt werden.

Von Amphibien ist bekannt, daß auch größere Tiere nur mit Hautatmung ihren Sauerstoffbedarf decken können, und bei einigen Vertretern dieser Gruppe (z. B. Desmognathus fuscus) sind die Atmungsorgane vollständig zurückgebildet (Piiper et al., 1976).

Der Diffusionsgradient für CO_2 - die treibende Kraft für die Diffusion - ist zwar nur ein Bruchteil des Gradienten für O_2, jedoch wird dieses durch die ca. 25-fach größere Kapazität der Körperflüssigkeiten für CO_2 und den entsprechend höheren Krogh'schen Diffusionskoeffizienten in etwa ausgeglichen (Dejours, 1981; Piiper, 1982). Es ist daher möglich, daß nicht nur eine Nettosauerstoffaufnahme erfolgt, sondern auch eine entsprechende CO_2-Abgabe. Die Ergebnisse der Re-

spirometrie zeigen, daß ca. 50% des gesamten Gaswechsels, also des O_2- und des CO_2-Austausches, durch die Haut erfolgen. Bei Periophthalmus cantonensis, zu dem bereits mehrfach Parallelen gezogen werden konnten, macht der Anteil der Hautatmung sogar 76% bei der Luftatmung aus (Tamura et al., 1976). Meredith et al. (1982) geben für Neochanna burrowsius an, daß 43% der Sauerstoffaufnahme und 58% der CO_2-Ausscheidung durch Hautatmung erfolgen.

Die Bedeutung der beiden Kapillarnetze im Kopfbereich (Kiemen, Ösophagus) läßt sich nicht exakt abschätzen. Die Tatsache jedoch, daß eine rhythmische Ventilation des Buccalraumes stattfindet, zeigt, daß sie am Gasaustausch beteiligt sind und auch die Ergebnisse mit dem kompartimentierten Respirometer belegen, daß etwa 50% des Gasaustausches im Kopfbereich erfolgen. Der Hautanteil ist am Kopf im Vergleich zum Restkörper klein, so daß ein wesentlicher Teil dieses Gaswechsels von den Kapillaren der Kiemen und bzw. oder von den Kapillaren des Ösophagus bestritten werden muß.

4.5. Der Säure-Basen-Haushalt und der Energiestoffwechsel bei Luftatmung

Die vorliegenden Ergebnisse, insbesondere die Parameter des Säure-Basen-Status, charakterisieren Blennius pholis als typisches wasserlebendes Tier. Der Pco_2 sowie der Bikarbonatgehalt des Blutes entsprechen denen anderer Teleostier, die aufgrund der hohen Löslichkeit des CO_2 im Wasser mit etwa 1-3 Torr einen niedrigen Pco_2 im Blut haben bei einer Bikarbonatkonzentration von ca. 5-10 mM (Heisler, 1984). Eine Tendenz zum Luftatmer, die Pco_2-Werte um 20 Torr erreichen können (DeLaney et al., 1977), ist nicht erkennbar.

a) Der Säure-Basen-Haushalt bei Luftatmung

Da der Umfang des Gasaustausches durch den Übergang vom Wasser zur Luftatmung nicht beeinflußt wird, sind auch keine weitreichenden Veränderungen im Säure-Basen-Gleichgewicht zu erwarten. Die Experimente mit katheterisierten Fischen bestätigen diese Vermutung. Der venöse Po_2 wird nicht beeinflußt durch den Übergang zur Luftatmung, der Pco_2 steigt

nach drei Stunden Luftatmung um 1,1 Torr bei gleichzeitigem Abbau der Bikarbonatkonzentration um 1 mM. Drei Stunden Luftatmung führen somit zu einer leichten Acidose von 0,19 pH-Einheiten. Die Laktatkonzentration im Blut dieser Tiere beträgt 1,5 $mmol \cdot l^{-1}$, was sicherlich zur Acidose beiträgt. Die Versuche zum Energiestoffwechsel der Skelettmuskulatur bei Luftatmung lassen einen derartigen Anstieg der Laktatkonzentration nicht erwarten, da nach 6 Stunden Luftatmung im Muskel lediglich eine Erhöhung um 0,4 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg auf 0,97 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg zu verzeichnen ist.

Andererseits entspricht der Blutlaktatgehalt der katheterisierten Tiere in normoxem Wasser dem der Kontrolltiere in den Experimenten zur Hypoxie. Dieses läßt ebenso wie die Normalisierung der Ventilationsfrequenz die Schlußfolgerung zu, daß die Fische sich von dem operativen Eingriff erholt haben. Offensichtlich sind sie jedoch geschwächt, so daß die Reaktion auf die verschiedenen Versuchsbedingungen im Vergleich mit nicht katheterisiserten Tieren etwas überzeichnet sein mag.

Der Übergang zur Luftatmung führt bei vielen Fischen zu einer Acidose, die unter Umständen durch einen entsprechenden Anstieg der Bikarbonatkonzentration vollständig kompensiert sein kann (Wood, S.C. et al., 1979). Heisler (1982b) konnte andererseits für Synbranchus marmoratus zeigen, daß die Präferenz bei der pH-Regulation eindeutig auf der Konstanz des intrazellulären pH liegt. Zu diesem Zweck werden das Bikarbonation bzw. Bikarbonatäquivalente aus dem Extrazellularraum in den Intrazellularraum transportiert. Die Beteiligung eines derartigen transepithelialen Ionentransfers an der Acidose, die wohl auch bei Channa argus eine Rolle spielt (Ishimatzu und Itazawa, 1983), ist auch bei Blennius pholis zu vermuten. Insgesamt macht der metabolische Anteil, also der Ionentransfer bzw. der anaerobe Stoffwechsel, mehr als 85% der totalen Acidose aus. Der respiratorische Anteil ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen zur Analyse des Gaswechsels gering.

b) Der Energiestoffwechsel der Muskulatur

Der Anteil des anaeroben Stoffwechsels scheint jedoch während der Luftatmung bei unkatheterisierten Tieren keine große Rolle zu spielen. Der Laktatgehalt der Skelettmuskulatur steigt nach 6 Stunden der Luftatmung lediglich um 0,4 $\mu mol \cdot g^{-1}$ Fg an, und der Energieinhalt (EC) bleibt konstant. Der Abbau des Adenylatpools bei konstantem bzw. eventuell etwas erhöhtem Creatinphosphatpool könnte auf eine Verschiebung von Reaktionsgleichgewichten zurückzuführen sein. Eine Deutung dieses Befundes im Hinblick auf Belastungen für den Energiestoffwechsel bedingt durch Luftatmung scheint weniger einsichtig, da in der Muskelzelle beim Übergang zum anaeroben Stoffwechsel zunächst auch das Phosphagen zumindest teilweise abgebaut wird, was hier nicht der Fall ist.

Auch in der Übergangsphase zur Luftatmung scheint der anaerobe Stoffwechsel keine Bedeutung zu haben, wie die 30-Minuten-Werte zeigen. Die Laktatproduktion unter dem Einfluß von Luftatmung ist bisher wenig untersucht worden. Gordon et al. (1969) haben keine Veränderungen im Laktatgehalt des Blutes von Periophthalmus sobrinus feststellen können, wohingegen bei Sicyases sanguineus die Laktatkonzentration vor allem in den ersten 4 Stunden ansteigt (Gordon et al., 1970). Diese Diskrepanz wird verständlich, wenn man die Sauerstoffaufnahme bei Luftatmung in Betracht zieht. Während Periophthalmus sobrinus zu den wenigen Fischen gehört, die in Luft einen unveränderten Sauerstoffverbrauch haben, sinkt er bei Sicyases sanguineus in der ersten Stunde um 20% ab. Nach 15 Stunden Luftatmung beträgt er sogar lediglich 50% des normalen Wertes (Gordon et al., 1970). Die Laktatproduktion erklärt sich folglich aus der verminderten Sauerstoffaufnahme. Für Fische, die bei Luftatmung ihre Sauerstoffaufnahme nicht aufrechterhalten können, gleicht diese Situation einer Hypoxie, und die Energie wird durch anaerobe Stoffwechselreaktionen bereitgestellt.

c) Der Säure-Basen Haushalt bei Luftatmung nach Hemmung der Carboanhydrase

Nachdem die histologischen Untersuchungen in bezug auf eine

in Epithelzellen lokalisierte Carboanhydrase keine Parallele zu der Situation bei Trichogaster trichopterus ergeben haben, bleibt die Frage, ob das Enzym überhaupt an der Ausscheidung von CO_2 bei Luftatmung beteiligt ist, oder ob die Exkretion lediglich aufgrund der unkatalysierten Dehydratation des Bikarbonats erfolgt (Daxboeck und Heming, 1982).

Die Veränderungen des Säure-Basen-Haushaltes bei Luftatmung nach Hemmung der Carboanhydrase durch Methazolamid lassen darauf schließen, daß dieses Enzym entscheidenden Einfluß auf die CO_2-Ausscheidung hat. Die Hemmung dieses Enzyms hat zumindest vorübergehend eine Verringerung der CO_2-Exkretion zur Folge (Burggren und Haswell, 1979; Burnett et al., 1985), das heißt, der respiratorische Quotient sinkt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß die Hemmung der Carboanhydraseaktivität zu einer Retention von CO_2 im Blut führt und somit zu einem Anstieg des Pco_2, wodurch der Pco_2-Gradient zwischen Blut und Gewebe erhöht wird. Der Anstieg des Pco_2 auf über 6 Torr bedingt eine starke Acidose, der pH-Wert sinkt um 0,4 Einheiten, verglichen mit 0,19 Einheiten bei aktiver Carboanhydrase. Der Vergleich der Protonenbilanz nach 3 Stunden Luftatmung mit und ohne Methazolamid ergibt, daß der metabolische Anteil der Acidose bei beiden Versuchsserien konstant ist, der respiratorische Anteil dagegen ist bei gehemmter Carboanhydrase verdreifacht.

Die Hemmung der Carboanhydrase führt zu verminderter CO_2-Ausscheidung, da die unkatalysierte Dehydratation von Bikarbonat zu langsam ist und während der Passage des Blutes durch die respiratorischen Epithelien nicht genügend CO_2 bereitstellen kann. Durch die Erhöhung des Pco_2 und damit des Diffusionsgradienten für dieses Gas kann die mangelnde Enzymaktivität kompensiert werden. Letztendlich kann dadurch die ursprüngliche CO_2-Exkretionsrate wieder erreicht werden, wie vor allem Versuche an Crustaceen gezeigt haben (Randall und Wood, 1981; Henry und Cameron, 1983; Burnett et al., 1985).

Da die histologischen Untersuchungen keine Hinweise auf eine Beteiligung einer in Epithelzellen lokalisierten Carboanhy-

drase ergeben haben, muß gefolgert werden, daß die Carboanhydrase der Erythrozyten wesentlich an der CO_2-Ausscheidung während der Luftatmung beteiligt ist. Das von Randall und Daxboeck (1984) vorgestellte Schema der CO_2-Exkretion in den Kiemen der Fische (Abb. 46) gilt also bei Blennius auch für

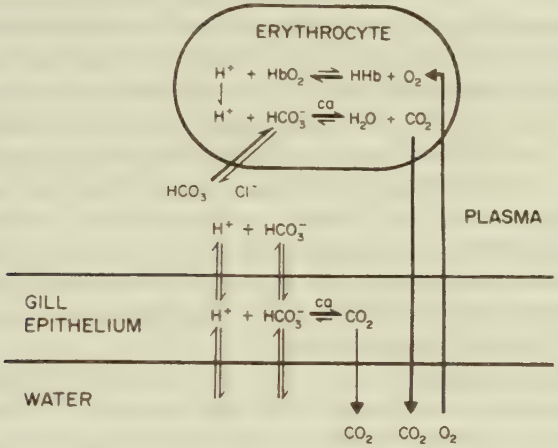

Abb. 46
Schematische Darstellung der Reaktionsfolgen bei der CO_2-Ausscheidung in den Kiemen der Fische
(entnommen aus: Randall und Daxboeck, 1984; S. 296)

die Luftatmung. Bei der Luftatmung spielt allerdings das Kapillarsystem der Haut eine große Rolle. Auch das Gefäßsystem des Ösophagus kann zum Gasaustausch beitragen.

Im Gegensatz zu den in vivo Versuchen ohne Methazolamid, bei denen der venöse Po_2 durch den Übergang zur Luftatmung nicht beeinflußt wurde, kommt es nach Injektion des Sulfonamids zu einer starken Verminderung des venösen Po_2 von 29 auf 18 Torr. Diese Reduktion ist bedingt durch die starke Acidose, die die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins verringert. Eine verminderte Sättigung des Blutes führt zu einer stärkeren Nutzung des venösen Restsauerstoffs und damit zu einer Erniedrigung des venösen Po_2.

VI. Zusammenfassung

Die Mechanismen der Anpassung an das Leben in Biotopen mit extremen Lebensbedingungen wurden bei den beiden marinen Teleostiern Lumpenus lampretaeformis und Blennius pholis unter atmungsphysiologischen Gesichtspunkten analysiert.

Bei Lumpenus wurden zunächst umfangreiche Studien zur Grabtätigkeit und zur Ventilation des Baues durchgeführt. In vergleichenden Untersuchungen wurden die respiratorischen Eigenschaften des Blutes von Lumpenus und Blennius analysiert sowie die atmungsphysiologischen und biochemischen Anpassungen an hypoxe Umweltbedingungen aufgezeigt. Da Blennius in der Lage ist, das Wasser zu verlassen und Luft zu atmen - er kann dadurch eventuell einer Hypoxie im Wasser des Felstümpels ausweichen -, wurden verschiedene Experimente insbesondere zum Gasaustausch und zum Säure-Basen-Haushalt bei Luftatmung durchgeführt.

1. Lumpenus lampretaeformis legte in einem künstlichen Biotop seinen Bau an, indem er sich durch schlagende Bewegungen des Schwanzes mit dem pfeilförmigen Kopf voran in das Sediment bohrte. Der Bau konnte als einfache, unverzweigte Röhre innerhalb von 24 h fertiggestellt werden. Im Endstadium waren die Bauten typischerweise flach (bis zu 10 cm tief) und Y-förmig. Der Durchmesser der Bauten entsprach in etwa dem Durchmesser der Fische. Zwischen den Bauten verschiedener Tiere bestanden Verbindungen.
2. Die Ventilation des Baues erfolgte mit einem vom Kopf zum Schwanzende des Tieres gerichteten Wasserstrom, der durch periodische, undulierende Bewegungen des Schwanzes hervorgerufen wurde.
3. In den Einstromöffnungen war ein höherer Po_2 und ein niedrigerer Pco_2 zu registrieren als in den Ausstromöffnungen. Die Unterschiede im Pco_2 waren jedoch sehr gering; die Po_2-Differenz konnte aber bis zu 50,5 Torr betragen. Der niedrigste Po_2-Wert, der in einem Bau gemessen wurde, betrug 57,1 Torr, der höchste Pco_2 1,3 Torr.
4. In vitro Untersuchungen ergaben eine niedrige Sauerstoffaffinität des Blutes von Lumpenus (P_{50} = 20 Torr bei pH

7,8), wohingegen das Blut von Blennius eine deutlich höhere Sauerstoffaffinität besaß (P_{50} = 8,8 Torr bei pH 7,8). Der Bohr-Effekt war bei beiden Species mit φ = -0,70 für Lumpenus und φ = - 0,66 für Blennius hoch. Der hohe Bohr-Effekt ergibt, kombiniert mit der niedrigen Pufferkapazität des Blutes (5 - 6 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$), ein flexibles System für die Regulation der Sauerstoffaffinität des Blutes. Der Root-Effekt war bei Lumpenus mit einer Kapazitätsminderung von 20% bei pH 7,0 nicht stark ausgeprägt. Die Pufferkapazität des Muskelgewebes von Lumpenus betrug 43,1 $mmol \cdot l^{-1} \cdot pH^{-1}$.

5. Bei Lumpenus konnte ein Sauerstoffverbrauch von 2,66 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ ermittelt werden, der RQ betrug 0,82. Die entsprechenden Werte für Blennius waren 1,73 $\mu mol \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$ bei einem RQ von 0,86. Die Bestimmung der Sauerstoffaufnahme in Abhängigkeit vom Po_2 ergab bei Lumpenus einen stärkeren Rückgang des Sauerstoffverbrauches bereits bei Po_2-Werten unter 60 Torr, so daß der kritische Po_2-Bereich zwischen 50 und 60 Torr lag. Bei Blennius wurde der kritische Po_2-Bereich erst zwischen 20 und 30 Torr erreicht.
6. In der Skelettmuskulatur wurden in Abhängigkeit vom Po_2 verschiedene Metabolite des Stoffwechsels bestimmt. Der kritische Bereich, der aufgrund der Akkumulation von Laktat und aufgrund des Anstieges im Gehalt an Glucose-6-phosphat im Muskelgewebe ermittelt wurde, stimmte mit den Ergebnissen der Sauerstoffverbrauchsmessungen überein (<65 Torr für Lumpenus; < 40 Torr für Blennius). Der Energieinhalt und der Gehalt an Adeninnucleotiden blieben unverändert. Die Po_2-Werte für den kritischen Bereich entsprachen bei Lumpenus den niedrigsten Po_2-Werten, die in seinem Biotop gemessen werden konnten. Bei Blennius waren sie um etwa 10 Torr höher als die Minimalwerte, die in Felstümpeln registriert wurden. Daraus ist zu folgern, daß beide Species respiratorisch und bezüglich des Energiestoffwechsels so an ihr Biotop angepaßt sind, daß sie nur selten zur vorwiegend anaeroben Energieproduktion übergehen müssen.
7. Der Anstieg der Laktat- und Glucosekonzentrationen im

Blut in Abhängigkeit vom Po_2 verlief bei Blennius exakt parallel zu den Konzentrationsänderungen von Laktat und Glucose-6-phosphat im Muskelgewebe, bei Lumpenus hingegen war bereits bei 80 Torr Po_2 ein Anstieg in der Konzentration dieser beiden Metabolite zu erkennen. Von den organischen Phosphaten, die die Affinität des Hämoglobins zum Sauerstoff modulieren, war bei Lumpenus nur ATP im Blut nachzuweisen, und die Konzentration war bei den Inkubationen unter Hypoxie nicht signifikant verschieden von den Kontrollwerten. Im Blut von Blennius ließen sich jedoch sowohl ATP als auch GTP nachweisen. Auch hier war keine Abnahme der ATP-Konzentration in Abhängigkeit vom Po_2 festzustellen. Die GTP-Konzentration sank jedoch bei Po_2-Werten unter 60 Torr deutlich ab, wodurch die Sauerstoffaffinität des Hämoglobins erhöht wird. Lumpenus kann offensichtlich die O_2-Affinität bei Hypoxie nicht entsprechend modulieren. Die geringe Hypoxietoleranz von Lumpenus könnte zum Teil hierin begründet sein.

8. Blennius pholis ist in der Lage, Luft zu atmen. Die Stoffwechselrate und auch der respiratorische Quotient bei Luftatmung und im Wasser waren gleich. Die Herzaktivität war ebenfalls nach einer kurzen Bradykardie in der Übergangsphase unverändert. Die Ventilation an der Luft erfolgte durch Ein- und Ausatmung bei geschlossenen Operkula. Bei nicht katheterisierten Tieren war nur ein ganz geringer Anstieg im Laktatgehalt des Muskelgewebes festzustellen.

Analysen zum Säure-Basen-Haushalt mit Hilfe von chronisch implantierten Kathetern belegten, daß die CO_2-Ausscheidung auch an der Luft unter maßgeblicher Beteiligung der Carboanhydrase erfolgte. Histologische Untersuchungen verschiedener Gewebe führten zu der Schlußfolgerung, daß eine in Epithelzellen lokalisierte Carboanhydrase kaum einen Beitrag zur CO_2-Ausscheidung leisten kann, so daß die CO_2-Ausscheidung auch bei Luftatmung durch die Carboanhydrase der Erythrozyten in den Kapillarnetzen der Haut, der Kiemen und eventuell des Ösophagus erfolgen muß.

VI. Literatur

Able, K.W.; Grimes, C.B.; Cooper, R.A.; Uzmann, J.R. (1982). Burrow construction and behavior of tilefish, Lopholatilus chamaeleonticeps, in Hudson submarine canyon. Env. Biol. Fish., Vol. 7, S. 199-205.

Adcock, P.J.; Dando, P.R. (1983). White muscle lactate and pyruvate concentrations in rested flounder, Platichthys flesus and plaice, Pleuronectes platessa: A re-evaluation of handling and sampling techniques. J. Mar. Biol. Ass. U.K., Vol. 63, S. 897-903.

Albers, C. (1970) Acid-base balance. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. IV, S. 173-208. Academic Press, New York.

Albers, C.; Götz, K.-H. (1983). Effect of acclimation temperature on intraerythrocytic acid-base balance and nucleotide triphosphates in the carp, Cyprinus carpio. Respir. Physiol., Vol. 54, S. 145-159.

Aller, R.C. (1977). The influence of macrobenthos on chemical diagenesis in marine sediments. Dissertation, Yale University, New Haven, Connecticut.

Alp, P.R.; Newsholme, E.A.; Zammit, V.A.; (1976). Activities of citrate synthase and NAD^+-linked and $NADP^+$-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. Biochem. J., Vol. 154, S. 689-700.

Altman, P.L.; Dittmer, D.S. (Hrsg.) (1971). Biological Handbooks: Respiration and Circulation. Bethesda, Fed. Am. Soc. Exp. Biol.

Antonini, E.; Brunori, M. (1971). Haemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands. Amsterdam, North Holland.

Atkinson, D.E. (1968). The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. Biochemistry, Vol. 7, S. 4030-4034.

Atkinson, R.J.A. (1974). Behavioural ecology of the mud-burrowing crab Goneplax rhomboides. Marine Biology, Vol. 25, S. 239-252.

Atkinson, R.J.A. (1976). Some preliminary field observations of the burrows of the red band fish, Cepola rubescens. J. Fish Biol., Vol. 9, S. 181-183.

Atkinson, R.J.A.; Pullin, R.S.V.; Dipper, F.A. (1977). Studies on the red band fish, Cepola rubescens. J. Zool. Lond., Vol. 182, S. 369-384.

Atkinson, R.J.A.; Moore, P.G.; Morgan, P.J. (1982). The burrows and burrowing behaviour of Maera loveni (Crustacea: Amphipoda). J. Zool. Lond., Vol. 198, S. 399-416.

Atkinson, R.J.A.; Chapman, C.J. (1984). Resin casting: A technique for investigating burrows in sublitoral sediments. Progress in Underwater Science, Vol. 9, S. 15-25.

Atkinson, R.J.A.; Nash, R.D.M. (1985). Burrows and their inhabitants. Progress in Underwater Science, Vol. 10, S. 109-115.

Barrow, M.J.; Wells, R.M.G. (1982). Ventilation and oxygen extraction in an arenicolid polychaete. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 73A, S. 491-495.

Bartlett,G.R. (1980). Phosphate compounds in vertebrate red blood cells. Amer. Zool., Vol. 20, S. 103-115.

Bath, H. (1976). Revision der Blenniini. Senckenbergiana Biologica, Vol. 57, S. 167-234.

Berg, T.; Steen J.B. (1968). The mechanism of oxygen concentration in the swim-bladder of the eel. J. Physiol., Vol. 195, S. 631-638.

Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.) (1974). Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. I u. II. Verlag Chemie, Weinheim.

Bergmeyer, H.-U.; Bernt, E. (1974a). Glutamat-Oxalacetat-Transminase. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd I^3, S. 769-775. Verlag Chemie, Weinheim.

Bergmeyer, H.-U.; Bernt, E. (1974b). Glutamat-Pyruvat-Transaminase. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd I^3, S. 785-791. Verlag Chemie, Weinheim.

Bergmeyer, H.-U.; Gawehn, K.; Graßl, M. (1974). Enzyme als biochemische Reagentien. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd I^3, S. 454-558. Verlag Chemie, Weinheim.

Bertin, L. (1958). Organes de la respiration aérienne. In: Grassé, P.P. (Hrsg.): Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie, Agnathes et Poissons, Anatomie, Ethologie, Systématique. Vol. 13,2, S. 1363-1398.

Bowman, G.T.; Delfino, J.J. (1980). Sediment oxygen demand techniques: A review and comparison of laboratory and in situ systems. Water Research, Vol. 14, S. 491-499.

Brand, A.R.; Taylor, A.C. (1974). Pumping activity of Arctica islandica (L.) and some other common bivalves. Mar. Behav. Physiol., Vol. 3, S. 1-15.

Bridges, C.R. (1979). Adaptations of Corystes cassivelaunus to an arenicolous mode of life. In: Naylor, E.; Hartnoll, R.G. (Hrsg.): Proc. 13th Eur. Mar. Biol. Symp., Isle of Man. S. 317-324.

Bridges, C.R.; Scheid, P. (1982). Buffering and CO_2 dissociation of body fluids in the pupa of the silkworm moth, Hyalophora cecropia. Respir. Physiol., Vol. 48, S. 183-197.

Bridges, C.R.; Taylor, A.C.; Atkinson, R.J.A. (1982). Respiratory properties of the blood of the burrowing red band fish Cepola rubescens L.. J. Exp.Mar. Biol. Ecol., Vol. 59, S. 51-60.

Bridges, C.R.;Taylor, A.C.; Morris, S.J.; Grieshaber, M.K. (1984).Ecophysiological adaptations in Blennius pholis (L.) blood to intertidal rockpool environments.J.Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 77, S. 151-167.

Burggren, W.W. (1979). Bimodal gas exchange during variation in environmentaloxygenand carbon dioxide inthe air breathing fish Trichogaster trichopterus. J.Exp. Biol., Vol. 82, S. 197-213.

Burggren, W.W.; Haswell, S. (1979). Aerial CO_2 excretion in the obligate air breathing fish Trichogaster trichopterus: A role for carbonic anhydrase. J. Exp. Biol., Vol. 82, S. 215-225.

Burnett, L.E.; Dunn, T.N.; Infantino, R.L. (1985). The function of carbonic anhydrase in Crustacean gills. In Press.

Burton, D.T.; Heath, A.G. (1980). Ambient oxygen tension (Po_2) and transition to anaerobic metabolism in three species of freshwater fish. Can J. Fish. Aquat. Sci., Vol. 37, S. 1216-1224.

Burton, R.F. (1978). Intracellular buffering. Respir. Physiol., Vol. 33, S. 51-58.

Cameron, J.N.; Davis, J.C. (1970). Gas exchange in rainbow trout (Salmo gairdneri) with varying blood oxygen capacity. J. Fish. Res. Board Canada, Vol. 27, S. 1069-1085.

Cameron, J.N. (1971). Rapid method for determination of total carbon dioxide in small blood samples. J. Appl. Physiol., Vol. 31, S. 632-634.

Cameron, J.N. (1978a). Regulation of blood pH in teleost fish. Respir. Physiol., Vol. 33, S. 129-144.

Cameron, J.N. (1978b). Chloride shift in fish blood. J. Exp. Zool., Vol. 206, S. 289-295.

Campbell, C.M. (1972). Effect of temperature and other environmental factors on the metabolism of Blennius pholis (L.). Dissertation, Universität Glasgow.

Campbell, C.M.; Spencer Davies, P. (1975). Thermal acclimation in the teleost, Blennius pholis (L.). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 52A, S. 147-151.

Carter, G.S.; Beadle, L.L. (1931). The fauna of the swamps of the Paraguayan Chaco in relation to its environment II. Respiratory adaptations in the fishes. J. Linn. Soc., Vol. 37, S. 327-368.

Castellini, M.A.; Somero, G.N. (1981). Buffering capacity of vertebrate muscle: Correlations with potentials for anaerobic function. J. Comp. Physiol. B, Vol. 143, S. 191-198.

Chen, R.F.; Kernohan, J.C. (1967). Combination of bovine carbonic anhydrase with a fluorescent sulfonamide. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 242, S. 5813-5823.

Congleton, J.L. (1974). The respiratory response to asphyxia of Typhlogobius californiensis (Teleostei: Gobiidae) and some related gobies. Biol. Bull., Vol. 146, S. 186-205.

Congleton, J.L. (1980). Observations on the responses of some southern California tidepool fishes to nocturnal hypoxic stress. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 66A, S. 719-722.

Couch, J. (1863). A history of the fishes of the British Isles. Vol. 2, 265 Seiten. London.

Dales, R.P. (1961). Oxygen uptake and irrigation of the burrow by three terebellid polychaetes: Eupolymnia, Thelepus and Neoamphitrite. Physiol. Zool., Vol. 34, S. 306-311.

Daniel, M.J. (1971). Aspects of the physiology of the intertidal teleost, Blennius pholis (L.). Ph.D. Thesis, Universität London, 227pp.

Davenport, J.; Vahl, O. (1979). Responses of the fish Blennius pholis to fluctuating salinities. Marine Ecology - Progress Series, Vol. 1, S. 101-107.

Davenport, J.; Woolmington, A.D. (1981). Behavioural responses of some rocky shore fish exposed to adverse environmental conditions. Mar. Behav. Physiol., Vol. 8, S. 1-12.

Daxboeck, C.; Holeton, G.F. (1978). Oxygen receptors in the rainbow trout, Salmo gairdneri. Can. J. Zool., Vol. 56, S. 1254-1259.

Daxboeck, C.; Barnard, D.K.; Randall, D.J. (1981). Functional morphology of the gills of the bowfin, Amia calva L., with special reference to their significance during air exposure. Respir. Physiol., Vol. 43, S. 349-364.

Daxboeck, C.; Heming, T.A. (1982). Bimodal respiration in the intertidal fish, Xiphister atropurpureus (Kittlitz). Mar. Behav. Physiol., Vol. 9, S. 23-33.

Day, F. (1880-4). The Fishes of Great Britain and Ireland. Vol. 1, S. 203-205. William Norgate.

Dejours, P.; Armand, J.; Verriest, G. (1968). Carbon dioxide dissociation curves of water and gas exchange of water-breathers. Respir. Physiol., Vol. 5, S. 23-33.

Dejours, P. (1981). Principles of Comparative Respiratory Physiology. Second Edition, 265 pp. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford.

DeLaney, R.G.; Lahiri, S.; Hamilton, R.; Fishman, A.P. (1977). Acid-base balance and plasma composition in the aestivating lungfish (Protopterus). Am. J. Physiol., Vol. 232, S. R10-R17.

Dermietzel, R.; Leibstein, A.; Siffert, W.; Zamboglou, N.; Gros, G. (1985). A fast screening method for histochemical localization of carbonic anhydrase. Application to kidney, skeletal muscle, and thrombocytes. J. Histochem. and Cytochem., Vol. 33, S. 93-98.

Dethlefsen, V.; Westernhagen, H. von (1984). Oxygen deficiency and effects on bottom fauna in the eastern German Bight 1982. Meeresforschung, Bd. 30, S. 42-53.

Dimberg, K.; Höglund, L.B.; Knutsson, P.G.; Ridderstrale, Y. (1981). Histochemical localization of carbonic anhydrase in gill lamellae from young salmon (Salmo salar, L.) adapted to fresh and salt water. Acta Physiol. Scand., Vol. 112, S. 218-220.

Driedzic, W.R.; Hochachka, P.W. (1975). The unanswered question of high anaerobic capabilities of carp white muscle. Can. J. Zool., Vol. 53, S. 706-712.

Driedzic, W.R.; Hochachka, P.W. (1976). Control of energy metabolism in fish white muscle. Am. J. Physiol., Vol. 230, S. 579-582.

Driedzic, W.R.; Stewart, J.M. (1982). Myoglobin content and the activities of enzymes of energy metabolism in red and white fish hearts. J. Comp. Physiol. B, Vol. 149, S. 67-73.

Dunne, J. (1977). Littoral and benthic investigations on the west coast of Ireland - VII. (Section A: Faunistic and ecological studies)! The biology of the shanny, Blennius pholis L. (Pisces) at Carna, Connemara. Proc. Royal Irish Acad. Section B, Vol. 77, S. 207-226.

Dworschak, P.C. (1981). The pumping rates of the burrowing shrimp Upogebia pusilla (Petagna) (Decapoda: Thalassinidea). J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 52, S. 25-35.

Dworschak, P.C. (1983). The biology of Upogebiapusilla (Petagena) (Decapoda, Thalassinidea). I. The burrows. Marine Ecology, Vol. 4, S. 19-43.

Eddy, F.B.; Morgan, R.I.C. (1969). Some effects of carbon dioxide on the blood of rainbow trout (Salmo gairdneri, Richardson). J. Fish Biol., Vol. 1, S. 361-372.

Eddy, F.B. (1974). Blood gases of the tench (Tinca tinca) in well aerated and oxygen deficient waters. J. Exp. Biol., Vol. 60, S. 71-83.

Fänge, R. (1983). Gas exchange in the swim bladder. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., Vol. 97, S. 111-158.

Farmer, M.; Fyhn, H.J.; Fyhn, U.E.H.; Noble, R.W. (1979). Occurrence of root effect hemoglobins in Amazonian fishes. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 115-124.

Farrell, A.P.; Daxboeck, C. (1981). Oxygen uptake in the lingcod, Ophiodon elongatus, during progressive hypoxia. Can. J. Zool., Vol. 59, S. 1272-1275.

Forstner, H. (1983). An automated multiple-chamber intermittent-flow respirometer. In: Gnaiger, E.; Forstner, H. (Hrsg.): Polarographic Oxygen Sensors, S. 111-126. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.

Forster, G.; Bernt, E.; Bergmeyer, H.-U. (1974). Kreatin-Kinase. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd. I^3, S. 817-821. Verlag Chemie, Weinheim.

Foster-Smith, R.L. (1978). An analysis of water flow in tube-living animals. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 34, S. 73-95.

Gast, G.; Harrison, J.T. (1981). Biological pumps at the sediment-water interface: Mechanistic evaluation of the alpheid shrimp Alpheus mackayi and its irrigation pattern. Mar. Biol., Vol. 64, S. 71-78.

Gatz, R.N.; Crawford, E.C.; Piiper, J. (1974). Metabolic and heart rate response of the plethodontid salmander Desmognathus fuscus to hypoxia. Respir. Physiol., Vol. 20, S. 43-49.

Gäde, G. (1983). Energy metabolism of Arthropods and Molluscs during environmental and functional anaerobiosis. J. Exp. Zool., Vol. 228, S. 415-429.

Geers, C.; Gros, G. (1984). Inhibition properties and inhibition kinetics of an extracellular carbonic anhydrase in perfused skeletal muscle. Respir. Physiol., Vol. 56, S. 269-287.

Gibson,R.N. (1982). Recent studies on the biology of intertidal fishes. Oceanogr.Mar. Biol. Ann. Rev., Vol. 20, S. 367-414.

Gillen, R.C.; Riggs, A. (1971). The hemoglobins of a freshwater teleost Cichlasoma cyanoguttatum (Baird and Girard) - I. The effects of phosphorylated organic compounds upon the oxygen equlibria. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 38B, S. 585-595.

Gordon, J.D.M.;Duncan, J.A.R. (1979). Some notes on the biology of the snake blenny, Lumpenus lampretaeformis on the west coast of Scotland. J.Mar. Biol. Ass. U.K., Vol. 59, S. 413-419.

Gordon, M.S.; Boetius, I.; Evans, D.H.; McCarthy, R.; Oglesby, L.C. (1969). Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes I. The mudskipper, Periophthalmus sobrinus. J. Exp. Biol., Vol. 50, S. 141-149.

Gordon, M.S.; Fischer, S.; Tarifeno, E. (1970). Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes. II. The chilean clingfish, Sicyases sanguineus. J. Exp. Biol., Vol. 53, S. 559-572.

Gordon, M.S.; Ng, W.W.; Yip, A.Y. (1978). Aspects of the physiology of terrestrial life in amphibious fishes. J. Exp. Biol., Vol. 72, S. 57-75.

Graham, J.B. (1973). Terrestrial life of the amphibious fish Mnierpes macrocephalus. Marine Biology, Vol. 23, S. 83-91.

Graham,J.B. (1976). Respiratory adaptations of marine air-breathing fishes. In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 165-188. Academic Press, London, New York.

Greaney, G.S.; Powers, D.A. (1977). Cellular regulation of an allosteric modifier of fish haemoglobin. Nature, Vol. 270, S. 73-74.

Greaney,G.S.; Powers, D.A. (1978). Allosteric modifiers of fish hemoglobins: In vitro and in vivo studies of the effect of ambient oxygen and pH on erythrocyte ATP concentrations. J. Exp. Zool., Vol. 203, S. 339-350.

Grieshaber, M.K. (1982). Metabolic regulation of energy metabolism. In: Addink, A.D.F.; Spronk, N. (Hrsg.): Exogenous and endogenous influences on metabolic and neural control. S. 87-102. Pergamon Press, Oxford.

Gros, G.; Siffert, W.; Schmid, A. (1980). Activity and properties of carbonic anhydrase in striated muscle. In: Bauer, C.; Gros, G.; Bartels, H. (Hrsg.): Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide. S. 410-416. Springer Verlag, Heidelberg.

Gutmann, I.; Wahlefeld, A.W. (1974). L-Lactat, Bestimmung mit Lactat-Dehydrogenase und NAD^+. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. II^3, S. 1825-1829. Verlag Chemie, Weinheim.

Hall, F.G. (1929). The influence of varying oxygen tensions upon the rate of oxygen consumption in marine fishes. Am. J. Physiol., Vol. 88, S. 212-218.

Hansson, H.P.J. (1967). Histochemical demonstration of carbonic anhydrase activity. Histochemie, Vol. 11, S. 112-128.

Haswell, M.S.; Randall, D.J. (1976). Carbonic anhydrase inhibitor in trout plasma. Respir. Physiol., Vol. 28, S. 17-27.

Haswell, M.S.; Randall, D.J. (1978). The pattern of carbon dioxide excretion in the rainbow trout Salmo gairdneri. J. Exp. Biol., Vol. 72, S. 17-24.

Haswell, M.S.; Randall, D.J.; Perry, S.F. (1980). Fish gill carbonic anhydrase: Acid-base regulation or salt transport? Am. J. Physiol., Vol. 238, S. R240-R245.

Heisler, N.; Piiper, J. (1971). The buffer value of rat diaphragm muscle tissue determined by CO_2 equilibration of homogenates. Respir. Physiol., Vol. 12, S. 169-178.

Heisler,N.(1980). Regulation of the acid-base status in fishes.In:Ali, M.A. (Hrsg.): Environmental Biology of Fishes,S. 123-162. Plenum Publishing Corporation, New York.

Heisler, N. (1982a). Transepithelial ion transfer processes as mechanisms for fish acid-base regulation in hypercapnia and lactacidosis. Can. J. Zool., Vol. 60, S. 1108-1122.

Heisler, N. (1982b). Intracellular and extracellular acid-base regulation in the tropical freshwater teleost fish, Synbranchus marmoratus in response to the transition from water breathing to air breathing. J. Exp. Biol., Vol. 99, S. 9-28.

Heisler, N. (1984). Acid-base regulation in fishes. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. X A, S. 315-401. Academic Press, New York.

Heming, T.A.; Randall, D.J. (1982). Fish erythrocytes are bicarbonate permeable: Problems with determining carbonic anhydrase activity using the modified boat technique. J. Exp. Zool., Vol. 219, S. 125-128.

Hemmingsen, E.A.; Douglas, E. (1970). Respiratory characteristics of the hemoglobin-free fish Chaenocephalus aceratus. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 33, S. 733-744.

Henry, R.P.; Cameron, J.N. (1983). The role of carbonic anhydrase in respiration, ion regulation and acid-base balance in the aquatic crab Callinectes sapidus and the terrestrial crab Gecarcinus lateralis. J. Exp. Biol., Vol. 103, S. 205-223.

Hochachka, P.W. (1985). Fuels and pathways as designed systems for support of muscle work. J. Exp. Biol., Vol. 115, S. 149-164.

Hoggarth, K.R.; Trueman, E.R. (1967). Techniques for recording the activity of aquatic invertebrates. Nature (London), Vol. 213, S. 1050-1051.

Holeton, G.F. (1977). Constancy of arterial blood pH during CO-induced hypoxia in the rainbow trout. Can. J. Zool., Vol. 55, S. 1010-1013

Houlihan, D.F.; Morrison, D.J. (1982). Aerial and aquatic respiration in some littoral fish in relation to their vertical zonation. Abstract. Symposium: Gas exchange, gas transport and acid-base regulation in lower vertebrates. Max-Planck Institut Göttingen.

Howell, B.J. (1970). Acid-base balance in transition from water breathing to air breathing. Federation Proceedings, Vol. 29, S. 1130-1134.

Hughes, G.M.; Saunders, R.L. (1970). Responses of the respiratory pumps to hypoxia in the rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Exp. Biol., Vol. 53, S. 529-545.

Hughes, G.M.; Singh, B.N. (1970). Respiration of an air-breathing fish, the climbing perch Anabas testudineus Bloch. I. Oxygen uptake and carbon dioxide release into air and water. J. Exp. Biol., Vol. 53, S. 265-280.

Hughes, G.M. (1973). Respiratory responses to hypoxia in fish. Amer. Zool., Vol. 13, S. 475-489.

Hughes, G.M. (1981). Effects of low oxygen and pollution on the respiratory system of fish. In: Pickering, A.D (Hrsg.): Stress and Fish. S. 121-146. Academic Press, London, New York.

Hughes, G.M.; Albers, C.; Muster, D.; Götz, K.H. (1983). Respiration of the carp, Cyprinus carpio L., at 10 and 20°C and the effects of hypoxia. J. Fish Biol., Vol. 22, S. 613-628.

Ingermann, R.L.; Terwilliger, R.C. (1982). Presence and possible function of root effect hemoglobins in fishes lacking functional swim bladders. J. Exp. Zool., Vol. 220, S. 171-177.

Ingermann, R.L. (1982). Physiological significance of root effect hemoglobins in trout. Respir. Physiol., Vol. 49, S. 1-10.

Isaacks, R.E.; Kim, H.D.; Harkness, D.R. (1978). Relationship between phosphorylated metabolic intermediates and whole blood oxygen affinity in some air-breathing and water-breathing teleosts. Can. J. Zool., Vol. 56, S. 887-890.

Ishimatsu, A.; Itazawa, Y. (1983). Blood oxygen levels and acid-base status following air exposure in an air-breathing fish, Channa argus: The role of air ventilation. Comp. Biochem Physiol., Vol. 74A, S. 787-793.

Itazawa, Y.; Ishimatsu, A. (1981). Gas exchange in an air-breathing fish, the snakehead Channa argus, in normoxic and hypoxic water and in air. Bull. of the Jap. Soc. Sci. Fish., Vol. 4, S. 829-834.

Jaworek, D.; Gruber, W.; Bergmeyer, H.-U. (1974). Adenosin-5'-diphosphat und Adenosin-5'-monophosphat. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse. Bd. II[3], S. 2178-2181. Verlag Chemie, Weinheim.

Jensen, F.; Weber, R.E. (1982). Respiratory properties of tench blood and hemoglobin adaptation to hypoxic- hypercapnic water. Molec. Physiol., Vol. 2, S. 235-250.

Jeuken, M. (1957). A study of the respiration of Misgurnus fossilis (L.), the pond loach. Dissertation, 114 Seiten. Reichsuniversität Leiden.

Johansen, K.; Lenfant, C.; Grigg, G.C. (1967). Respiratory control in the lungfish, Neoceratodus forsteri (Krefft). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 20, S. 835-854.

Johansen, K.; Hanson, D.; Lenfant, C. (1970). Respiration in a primitive air breather, Amia calva. Respir, Physiol., Vol. 9, S. 162-174.

Johansen. K. (1970). Air breathing in fishes. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. IV, S. 361-411. Academic Press, New York.

Johansen, K.; Weber, R.E. (1976). On the adaptability of haemoglobin function to environmental conditions. In: Spencer Davies, P. (Hrsg.): Perspectives in Experimental Biology, Vol. 1, S. 219-234. Pergamon Press, Oxford und New York.

Johansen, K. (1982). Respiratory gas exchange of vertebrate gills. In: Houlihan, D.F.; Rankin, J.C.; Shuttleworth, T.J. (Hrsg.): Gills, S. 99-128. Cambridge University Press.

Johnston, I.A. (1975a). Anaerobic metabolism in the carp (Carassius carassius L.). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 51B, S. 235-241.

Johnston, I.A. (1975b). Studies on the swimming musculature of the rainbow trout. II. Muscle metabolism during severe hypoxia. J. Fish Biol., Vol. 7, S. 459-467.

Jorgensen, J.B.; Mustafa, T. (1980a). The effect of hypoxia on carbohydrate metabolism in flounder (Platichthys flesus L.) - I. Utilization of glycogen and accumulation of glycolytic end products in various tissues. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 67B, S. 243-248.

Jorgensen, J.B.; Mustafa, T. (1980b). The effect of hypoxia on carbohydrate metabolism in flounder (Platichthys flesus L.) - II. High energy phosphate compounds and the

role of glycolytic and gluconeogenetic enzymes. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 67B, S. 249-256.

Kent, W.S. (1883). Marine and freshwater fishes of the British Isles. Handbook of the Great International Fish Exhibition. London.

Kerstens, A.; Lomholt, J.P.; Johansen, K. (1979). The ventilation, extraction and uptake of oxygen in undisturbed flounders, Platichthys flesus: Responses to hypoxia acclimation. J. Exp. Biol., Vol. 83, S. 169-179.

Kirchhof, H. (1983). Ökophysiologische Anpassungen an das Leben im Felstümpel bei Acanthocottus bubalis. Staatsexamensarbeit, Universität Düsseldorf.

Kirsch, R.; Nonnotte, G. (1977). Cutaneous respiration in three freshwater teleosts. Respir. Physiol., Vol. 29, S. 339-354.

Koike, I.; Mukai, H. (1983). Oxygen and inorganic nitrogen contents and fluxes in burrows of the shrimps Callianassa japonica and Upogebia major. Marine Ecology - Progress Series. Vol. 12, S. 185-190.

Kristensen, E. (1981). Direkt measurement of ventilation and oxygen uptake of three species of tubicolous Polychaetes (Nereis spp.). J. Comp. Physiol. B, Vol. 145, S. 45-50.

Kristensen, E. (1983). Comparison of polychaete (Nereis spp) ventilation in plastic tubes and natural sediment. Marine Ecology - Progress Series, Vol. 12, S. 307-309.

Krogh, A.; Leitch, I. (1919). The respiratory function of the blood in fishes. J. Physiol. London, Vol. 52, S. 288-300.

Lacy, E.R. (1983). Histochemical and biochemical studies of carbonic anhydrase activity in the opercular epithelium of the euryhaline teleost Fundulus heteroclitus. Am. J. Anat., Vol. 166, S. 19-39.

Laming, P.R.; Funston, C.W.; Roberts, D.; Armstrong, M.J. (1982). Behavioural, physiological and morphological adaptations of the shanny (Blennius pholis) to the intertidal habitat. J. Mar. Biol. Ass. U.K., Vol. 62, S. 329-338.

Lamprecht, W.; Stein, P.; Heinz, F.; Weisser, H. (1974). Kreatinphosphat, Bestimmung mit Kreatin-Kinase, Hexokinase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase. In: Bergmeyer, H.-U. (Hrsg.): Methoden der enzymatischen Analyse, Bd. II^3, S. 1825-1829. Verlag Chemie, Weinheim.

Lapennas, G.N. (1983). The magnitude of the bohr coefficient: Optimal for oxygen delivery. Respir. Physiol., Vol. 54, S. 161-172.

Laurent, P. (1984). Gill internal morphology. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. XA, S. 73-183. Academic Press, New York.

Lenfant, C.; Johansen, K. (1968). Respiration in the african lungfish Protopterus aethiopicus. I. Respiratory properties of blood and normal patterns of breathing and gas exchange. J. Exp. Biol., Vol. 49, S. 437-452.

Lenfant, C. (1973). High altitude adaptation in mammals. Amer. Zool., Vol. 13, S. 447-456.

Leray, C. (1979). Patterns of purine nucleotides in fish erythrocytes. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 64B, S. 77-82.

Liem, K.F. (1980). Air ventilation in advanced teleosts: Biomechanical and evolutionary aspects. In: Ali, M.A. (Hrsg.): Environmental Physiology of Fishes. S. 57-91. Plenum, New York.

Linnaeus, C. (1758). Systema naturae. 10. Aufl. Stockholm.

Lomholt, J.P.; Johansen K. (1979). Hypoxia acclimation in carp - how it affects O_2 uptake, ventilation, and O_2 extraction from water. Physiol. Zool., Vol. 52, S. 38-49.

Lykkeboe, G.; Johansen, K.; Maloiy, G.M.O. (1975). Functional properties of hemoglobins in the teleost Tilapia grahami. J. Comp. Physiol. B, Vol. 104, S. 1-11.

Marvin, D.E.; Heath, A.G. (1968). Cardiac and respiratory responses to gradual hypoxia in three ecologically distinct species of fresh-water fish. Comp. Biochem Physiol., Vol. 27, S. 349-355.

Meredith, A.S.; Davie, P.S.; Forster, M.E. (1982). Oxygen uptake by the skin of the Canterbury mudfish, Neochanna burrowsius. New Zealand J. Zool., Vol. 9, S. 387-390.

Meyer, H. (1935). Die Atmung von Uranoscopus scaber in ihrer Abhängigkeit vom Sauerstoffpartialdruck, vom pH und von der Temperatur im Außenmedium. Z. für vergl. Physiol., Bd. 22, S. 435-449.

Milton, P. (1971). Oxygen consumption and osmoregulation in the shanny, Blennius pholis. J. Mar. Biol. Ass. U.K., Vol. 51, S. 247-265.

Milton, P. (1983). Biology of littoral blenniid fishes on the coast of south-west england. J. Mar. Biol. Ass. U.K., Vol. 63, S. 223-237.

Morris, G.M.; Baldwin, J. (1984). pH buffering capacity of invertebrate muscle: Correlations with anaerobic muscle work. Molec. Physiol., Vol. 5, S. 61-70.

Morris, S.; Taylor, A.C. (1983). Diurnal and seasonal variation in physico-chemical conditions within intertidal

rock pools. Estuarine, Coastal and Shelf Science, Vol. 17, S. 339-355.

Moss, D.D.; Scott, D.S. (1961). Dissolved oxygen requirements of three species of fish. Trans. Am. Fish. Soc., Vol. 90, S. 377-411.

Munshi, J.S. (1976): Gross and fine structure of the respiratory organs of air-breathing fishes. In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 73-104. Academic Press, London, New York.

Nash, R.D.M. (1980). Laboratory observations on the burrowing of the snake blenny, Lumpenus lampretaeformis (Walbaum), in soft sediment. J. Fish Biol., Vol. 16, S. 639-648.

Nash, R.D.M.; Chapman, C.J.; Atkinson, R.J.A.; Morgan, P.J. (1984). Observations on the burrows and burrowing behaviour of Calocaris macandreae (Crustacea: Decapoda: Thalassinoidea). J. Zool., Vol. 202, S. 425-439.

Nikinmaa, M.; Soivio, A. (1982). Blood oxygen transport of hypoxic Salmo gairdneri. J. Exp. Zool., Vol. 219, S. 173-178.

Nilsson, S. (1984). Adrenergic control systems in fish. Mar. Biol. Letters, Vol. 5, S. 127-146.

Nonnotte, G.; Kirsch, R. (1978). Cutaneous respiration in seven sea-water teleosts. Respir. Physiol., Vol. 35, S. 111-118.

Nonnotte, G.; Nonnotte, L.; Kirsch, R. (1979). Chloride cells and chloride exchange in the skin of a sea-water teleost, the shanny (Blennius pholis L.). Cell and Tissue Res., Vol. 199, S. 387-396.

Obaid, A.L.; McElroy Critz, A.; Crandall, E.D. (1979). Kinetics of bicarbonate/chloride exchange in dogfish erythrocytes. Am. J. Physiol., Vol. 237, S. R132-R138.

Ott, M.E.; Heisler, N.; Ultsch, G.R. (1980). A re-evaluation of the relationship between temperature and critical oxygen tension in freshwater fishes. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 67A, S. 337-340.

Ottolenghi, C.; Puviani, A.C.; Baruffaldi, A.; Brighenti, L. (1983). Glucose-6-phosphatase and carbohydrate metabolism in muscles and liver of catfish (Ictalurus melas). Molec. Physiol., Vol. 4, S. 255-264.

Pernkopf, E.; Lehner, J. (1937). Vergleichende Beschreibung des Vorderdarmes bei den einzelnen Klassen der Kranioten. In: Bolk, L.; Göppert, E.; Kallius, E.; Lubosch, W. (Hrsg.): Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere. Bd. 3, S. 349-476.

Perry, S.P.; Davie, P.S.; Daxboeck, C.; Randall, D.J. (1982). A comparison of CO_2 excretion in a spontaneously ventilating blood-perfused trout preparation and saline-perfused gill preparations: Contribution of the branchial epithelium and red blood cell. J. Exp. Biol., Vol. 101, S. 47-60.

Piiper, J.; Gatz, R.N.; Crawford, E.C. (1976). Gas transport characteristics in an exclusively skin-breathing Salamander, Desmognathus fuscus (Plethodontidae). In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 339-356. Academic Press, London, New York.

Piiper, J. (1982). A model for evaluating diffusion limitation in gas-exchange organs of vertebrates. In: Taylor, C.R.; Johansen, K.; Bolis, L. (Hrsg.): A Companion to Animal Physiology. S. 49-64. Cambridge University Press.

Potter, I.C.; Rogers, M.J. (1972). Oxygen consumption in burrowed and unburrowed ammocoetes of Lampetra planeri (Bloch). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 41A, S. 427-432.

Powers, D.A.; Fyhn, H.J.; Fyhn, U.E.H.; Martin, J.P.; Garlick, R.L.; Wood, S.C. (1979). A comparative study of the oxygen equilibria of blood from 40 genera of Amazonian fishes. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 67-85.

Powers, D.A. (1980). Molecular ecology of Teleost fish hemoglobins: Strategies for adapting to changing environments. Amer. Zool., Vol. 20, S. 139-162.

Prosser, C.L. (Hrsg.) (1973). Comparative animal physiology. W.B. Saunders Company, Philadelphia.

Pullin, R.S.V.; Morris, D.J.; Bridges, C.R.; Atkinson, R.J.A. (1980). Aspects of the respiratory physiology of the burrowing fish Cepola rubescens L. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 66A, S. 35-42.

Quasim, S.Z. (1956). The spawning habitats and embryonic development of the shanny (Blennius pholis L.). Proc. Zool. Soc. London, Vol. 127, S. 79-93.

Quasim, S.Z. (1957). The biology of Blennius pholis L. (Teleostei). Proc. Zool. Soc. Lond., Vol. 128, S. 161-209.

Rachor, E.; Albrecht, H. (1983) Sauerstoffmangel im Bodenwasser der Deutschen Bucht. Veröff. Inst. Meeresforschung Bremerhaven. Vol. 19, 209-227.

Rahn, H.; Howell, B.J. (1976). Bimodal gas exchange. In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 271-285. Academic Press, London, New York.

Randall, D.J. (1970). Gas exchange in fish. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. IV, S. 253-292. Academic Press, New York.

Randall, D.J.; Wood, C.M. (1981). Carbon dioxide excretion in the land crab (Cardisoma carnifex). J. Exp. Zool., Vol. 218, S. 37-44.

Randall, D.J.; Burggren, W.W.; Farrell, A.P.; Haswell, M.S. (1981a). The Evolution of Air Breathing in Vertebrates. Cambridge University Press, London, New York.

Randall, D.J.; Cameron, J.N.; Daxboeck, C.; Smatresk, N. (1981b). Aspects of bimodal gas exchange in the bowfin, Amia calva L. (Actinopterygii; Amiiformes). Respir. Physiol., Vol. 43, S. 339-348.

Randall, D.J. (1982). The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia. J. Exp. Biol., Vol. 100, S. 275-288.

Randall, D.J.; Perry, S.F.; Heming, T.A. (1982). Gas transfer and acid/base regulation in salmonids. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 73B, S. 93-103.

Randall, D.; Daxboeck, C. (1984). Oxygen and carbon dioxide transfer across fish gills. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. X A, S. 253-314. Academic Press, New York.

Rapoport, S.; Guest, G.M. (1941). Distribution of acid-soluble phosphorus in blood cells of various vertebrates. J. Biol. Chem., Vol. 138, S. 269-282.

Rice, A.L.; Chapman, C.J. (1971). Observations on the burrows and burrowing behaviour of two mud-dwelling decapod crustaceans, Nephrops norvegicus and Goneplax rhomboides. Marine Biology, Vol. 10, S. 330-342.

Rice, A.L.; Johnstone, A.D.F. (1972). The burrowing behaviour of the gobiid fish Lesueurigobius friesii (Collett). Z. Tierpsychol., Vol. 30, S. 431-438.

Riggs, A. (1970). Properties of fish hemoglobins. In: Hoar, W.S.; Randall, D.J. (Hrsg.): Fish Physiology, Vol. IV, S. 209-252. Academic Press, New York.

Riggs, A. (1979). Studies of the hemoglobins of Amazonian fishes: An overview. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 257-272.

Root, R.W. (1931). The respiratory function of the blood of marine fishes. Biological Bulletin, Vol. 61, S. 427-456.

Sachs, L. (1978): Angewandte Statistik. S. 270. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.

Sanyal, G.; Swenson, E.R.; Pessah, N.I.; Maren, T.H. (1982). The carbon dioxide hydration activity of skeletal muscle

carbonic anhydrase. Inhibition by sulfonamides and anions. Molec. Pharmacol., Vol. 22, S. 211-220.

Satchell, G.H. (1976). The circulatory system of air-breathing fishes. In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 105-123. Academic Press, London, New York.

Schäfer, W. (1962). Ecology and Palaeoecology of Marine Environments. 568 Seiten. Oliver Boyd, Edinburgh.

Scheid, P.; Kawashiro, T.; Piiper, J. (1980). Evidence for facilitated transport of CO_2 in muscle tissue. In: Bauer, C.; Gros, G.; Bartels, H. (Hrsg.): Biophysics and Physiology of Carbon Dioxide. S. 58-63. Springer Verlag, Heidelberg.

Scheid, P.; Siffert, W. (1985). Effects of inhibiting carbonic anhydrase on isometric contraction of frog skeletal muscle. J. Physiol., Vol. 361, S. 91-101.

Schöttle, E. (1932). Morphologie und Physiologie der Atmung bei Gobiiformes. Z. der wiss. Zool., Vol. 140, S. 1-114.

Shoubridge, E.A.; Hochachka, P.W. (1983). The integration and control of metabolism in the anoxic goldfish. Molec. Physiol., Vol. 4, S. 165-195.

Sick, H.; Gersonde, K. (1969). Methoden zur kontinuierlichen Registrierung der O_2-Bindungskurven von Hämoproteiden mit Hilfe der Diffusionskammer. Analytical Biochemistry, Vol. 32, S. 362-376.

Sim, G. (1886). Occurrence of Lumpenus lampretaeformis on the north coast of Scotland. J. Linn. Soc. Zool., Vol. 20, S. 38-48.

Singh, B.N. (1976). Balance between aquatic and aerial respiration. In: Hughes, G.M. (Hrsg.): Respiration of Amphibious Vertebrates, S. 125-164. Academic Press, London, New York.

Smith, F.M.; Jones, D.R. (1978). Localization of receptors causing hypoxic bradycardia in trout (Salmo gairdneri). Can. J. Zool., Vol. 56, S. 1260-1265.

Smith, F.M.; Jones, D.R. (1982). The effect of changes in blood oxygen-carrying capacity on ventilation volume in the rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Exp. Biol., Vol. 97, S. 325-334.

Smith, M.J.; Heath, A.G. (1980). Responses to acute anoxia and prolonged hypoxia by rainbow trout (Salmo gairdneri) and mirror carp (Cyprinus carpio) red and white muscle: Use of conventional and modified metabolic pathways. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 66B, S. 267-272.

Soivio, A.; Nikinmaa, M.; Westman, K. (1980). The blood oxygen binding properties of hypoxic Salmo gairdneri. J. Comp. Physiol. B, Vol. 136, S. 83-87.

Somero, G.N. (1981). pH-temperature interactions on proteins: Principles of optimal pH and buffer system design. Marine Biology Letters, Vol. 2, S. 163-178.

Spurr,A.L.(1969). A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy. J. Ultrastruct. Res., Vol. 26, S. 31-43.

Stebbins, R.C.; Kalk, M. (1961). Observations on the natural history of the mud-skipper, Periophthalmus sobrinus. Copeia (1961), S. 18-27.

Steen, J.B. (1963). The physiology of the swimbladder of the eel Anguilla vulgaris - III. The mechanism of gas secretion. Acta Physiol. Scand., Vol. 59, S. 221-241.

Steffensen, J.F.; Johansen, K.; Sindberg, C.D.; Sorensen, J.H.; Moller, J.L. (1984). Ventilation and oxygen consumption in the hagfish, Myxine glutinosa L. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., Vol. 84, S. 173-178.

Tamura, S.O.; Morii, H.; Yuzuriha, M. (1976). Respiration of the amphibious fishes Periophthalmus cantonensis and Boleophthalmus chinensis in water and on land. J. Exp. Biol., Vol. 65, S. 97-107.

Tetens, V.; Lykkeboe, G. (1981). Blood respiratory properties of rainbow trout, Salmo gairdneri: Responses to hypoxia acclimation and anoxic incubation of blood in vitro. J. Comp. Physiol. B, Vol. 145, S. 117-125.

Todd, E.S.; Ebeling, A.W. (1966). Aerial respiration in the longjaw mudskipper Gillichthys mirabilis (Teleostei: Gobiidae). Biol. Bull., Vol. 130, S. 265-288.

Truchot, J.-P.; Duhamel-Jouve, A. (1980). Oxygen and carbon dioxide in the marine intertidal environment: diurnal and tidal changes in rock pools. Respir. Physiol., Vol. 39, S. 241-254.

Tucker, V.A. (1967). Method for oxygen content and dissociation curves on microliter blood samples. J. Appl. Physiol., Vol. 23, S. 410-414.

Ultsch, G.R.; Jackson, D.C.; Moalli, R. (1981). Metabolic oxygen conformity among lower vertebrates: The toadfish revisited. J. Comp. Physiol. B, Vol. 142, S. 439-443.

Val, A.L.; Schwantes, A.R.; Almeida-Val, V.M.F.; Schwantes, M.K.B. (1985). Hemoglobin, hematology, intraerythrocytic phosphates and whole blood bohr effect from lotic and lentic Hypostomus regani populations (Sao Paulo-Brasil). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 80B, S. 737-741.

Van den Thillart, G.; Kesbeke, F. (1978). Anaerobic production of carbon dioxide and ammonia by goldfish Carassius auratus (L.). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 59A, S. 393-400.

Van den Thillart, G.; Kesbeke, F.; Van Waarde, A. (1980): Anaerobic energy-metabolism of goldfish, Carassius auratus (L.). Influence of hypoxia and anoxia on phosphorylated compounds and glycogen. J. Comp. Physiol., Vol. 136, S. 45-52.

Van den Thillart, G. (1982). Adaptations of fish energy metabolism to hypoxia and anoxia. Molec. Physiol., Vol. 2, S. 49-61.

Van den Thillart, G.; Randall, D.; Hoa-Ren, L. (1983). CO_2 and H^+ excretion by swimming coho salmon, Oncorhynchus kisutch. J. Exp. Biol., Vol. 107, S. 169-180.

Van den Thillart, G.; Overbeek, M. (1984). Influence of Po_2 on CO_2 and H^+ excretion by Tilapia mosambica, Tinca tinca and Carassius auratus. In: First Congress of Comparative Physiological Biochemistry. Liège, August 1984. Abstrakt.

Van Waarde, A.; Van den Thillart, G.; Kesbeke, F. (1983). Anaerobic energy metabolism of the european eel, Anguilla anguilla L. J. Comp. Physiol. B, Vol. 149, S. 469-475.

Verheyen, E.; Blust, R.; Doumen, C. (1985). The oxygen uptake of Sarotherodon niloticus L. and the oxygen binding properties of its blood and hemolysate (Pisces: Cichlidae). Comp. Biochem. Physiol., Vol. 81A, S. 423-426.

Vetter, R.D.; Hodson, R.E. (1982). Use of adenylate concentrations and adenylate energy charge as indicators of hypoxic stress in estuarine fish. Can. J. Fish. Aquat. Sci., Vol. 39, S. 535-541.

Wallace, J.C. (1973). Observations on the relationship between the food consumption and metabolic rate of Blennius pholis L.. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 45A, S. 293-306.

Warburg, O.; Christian, W.; (1936). Pyridin, der wasserstoffübertragende Bestandteil von Gärungsfermenten (Pyridin-Nucleotide). Biochemische Zeitschrift, Vol. 287, S. 291-328.

Wardle, C.S. (1978). Non-release of lactic acid from anaerobic swimming muscle of plaice Pleuronectes platessa L.: A stress reaction. J. Exp. Biol., Vol. 77, S. 141-155.

Watters, K.W.; Smith, L.S. (1973). Respiratory dynamics of the starry flounder Platichthys stellatus in response to low oxygen and high temperature. Marine Biology, Vol. 19, S. 133-148.

Weber, G. (1952). Polarization of the fluorescence of macromolecules. Biochemical Journal, Vol. 51, S. 155-167.

Weber, R.E.; DeWilde, J.A.M. (1975). Oxygenation properties of haemoglobins from flatfish plaice (Pleuronectes platessa) and flounder (Platichthys flesus). J. Comp. Physiol. B, Vol. 101, S. 99-110.

Weber, R.E.; Lykkeboe, G.; Johansen, K. (1976). Physiological properties of eel haemoglobin: Hypoxic acclimation, phosphate effects and multiplicity. J. Exp. Biol., Vol. 64, S. 75-88.

Weber, R.E.; Wood, S.C.; Lomholt, J.P. (1976). Temperature acclimation and oxygen-binding properties of blood and multiple haemoglobins of rainbow trout. J. Exp. Biol., Vol. 65, S. 333-345.

Weber, R.E.; Lykkeboe, G. (1978). Respiratory adaptations in carp blood. Influences of hypoxia, red cell organic phosphates, divalent cations and CO_2 on hemoglobin-oxygen affinity. J. Comp. Physiol. B, Vol. 128, S. 127-137.

Weber, R.E.; Wood, S.C.; Davis, B. J. (1979). Acclimation to hypoxic water in facultative air-breathing fish: blood oxygen affinity and allosteric effectors. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 125-129.

Weber, R.E.; Wood, S.C. (1979). Effects of erythrocytic nucleoside triphosphates on oxygen equilibria of composite and fractionated hemoglobins from the facultative air-breathing amazonian catfish, Hypostomus and Pterygoplichthys. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 179-183.

Weber, R.E. (1982). Intraspecific adaptation of hemoglobin function in fish to oxygen availability. In: Addink, A.D.F.; Spronk, N. (Hrsg.): Exogenous and endogenous influences on metabolic and neural control. S. 87-102. Pergamon Press, Oxford.

Westernhagen, H. von; Dethlefsen, V. (1984). North Sea oxygen deficiency 1982 and its effects on the bottom fauna. Ambio, Vol. 12, S. 264-266.

Willmer, E.N. (1934). Some observations on the respiration of certain tropical fresh-water fishes. J. Exp. Biol., Vol. 11, S. 283-306.

Wittenberg, J.B.; Wittenberg, B.A. (1974). The choroid rete mirabile of the fish eye. I. Oxygen secretion and structure: Comparison with the swimbladder rete mirabile. Biol. Bull., Vol. 146, S. 116-136.

Wood, C.M.; McMahon, B.R.; McDonald, D.G. (1979). Respiratory gas exchange in the resting starry flounder, Platichthys stellatus: A comparison with other teleosts. J. Exp. Biol., Vol. 78, S. 167-179.

Wood, C.M.; McDonald, D.G.; McMahon, B.R. (1982). The influence of experimental anaemia on blood acid-base regulation in vivo and in vitro in the starry flounder (Platichthys stellatus) and the rainbow trout (Salmo gairdneri). J. Exp. Biol., Vol. 96, S. 221-237.

Wood, S.C.; Johansen, K. (1972). Adaptation to hypoxia by increased HbO_2 affinity and decreased red cell ATP concentration. Nature New Biology, Vol. 237, S. 278-279.

Wood, S.C.; Johansen, K.; Weber, R.E. (1975). Effects of ambient Po_2 on hemoglobin-oxygen affinity and red cell ATP concentrations in a benthic fish, Pleuronectes platessa. Respir. Physiol., Vol. 25, S. 259-267.

Wood, S.C.; Weber, R.E.; Davis, B.J. (1979). Effects of air-breathing on acid-base balance in the catfish. Hypostomus sp. Comp. Biochem. Physiol., Vol. 62A, S. 185-187.

Wood, S.C. (1980). Adaptation of red blood cell function to hypoxia and temperature in ectothermic vertebrates. Amer. Zool., Vol. 20, S. 163-172.

Wyman, J. (1964). Linked functions and reciprocal effects in hemoglobin: A second look. Advances in Protein Chemistry, Vol. 19, S. 223-286.

Yu, K.L.; Woo, N.Y.S. (1985). Effects of ambient oxygen tension and temperature on the bimodal respiration of an air-breathing teleost, Channa maculata. Physiol. Zool., Vol. 58, S. 181-189.

Zammit, V.A.; Newsholm, E.A. (1976). The maximum activities of hexokinase, phosphorylase, phosphofructokinase, glycerol phosphate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, octopine dehydrogenase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, nucleoside diphosphatekinase, glutamate-oxaloacetate transaminase and arginine kinase in relation to carbohydrate utilization in muscles from marine invertebrates. Biochemical Journal, Vol. 160, S. 447-462.

Zammit, V.A.; Beis, I.; Newsholm, E.A. (1978). Maximum activities and effects of fructose bisphosphate on pyruvate kinase from muscles of vertebrates and invertebrates in relation to the control of glycolysis. Biochemical Journal, Vol. 174, S. 989-998.

Zborowska-Sluis, D.T.; Labbate, A.; Klassen, G.A. (1974). Evidence of carbonic anhydrase activity in skeletal muscle: A role for facilitative carbon dioxide transport. Respir. Physiol., Vol. 21, S. 341-350

Zebe, E.; Grieshaber, M.K.; Schöttler, U. (1980). Biotopbedingte und funktionsbedingte Anaerobiose. Biologie in unserer Zeit, Vol. 10, S. 175-182.